

SÉRIE A, N° 4130

N° D'ORDRE :

4981

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

NGUYEN-TRONG Thu

DOCTEUR EN PHARMACIE

PREMIÈRE THÈSE

Mécanisme et Déterminisme cytogénétique de l'hypertrophie rénale
compensatrice chez la souris adulte

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 10 Juin 1963 devant la Commission d'Examen

M. J. André THOMAS *Président*

M. L. GALLIEN

M. J. STOLKOWSKI

{ *Examineurs*

RE A, N° 4130

N° D'ORDRE :

4981

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

NGUYEN-TRONG Thu

DOCTEUR EN PHARMACIE

PREMIÈRE THÈSE

Mécanisme et Déterminisme cytogénétique de l'hypertrophie rénale
compensatrice chez la souris adulte

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 10 Juin 1963 devant la Commission d'Examen

M. J. André THOMAS *Président*

M. L. GALLIEN

M. J. STOLKOWSKI

} *Examineurs*



FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE PARIS

FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen M. ZAMANSKY

G. JULIA	T. Analyse supérieure et Algèbre supérieur
PRENANT	T. Anatomie et Histologie comparées
GRASSE	T. Evolution des êtres organisés
PREVOST	T. Chimie organique
WYART	T. Minéralo et Cristallo.
TEISSIER	T. Zoologie
MANGENOT	T. Biologie Vég. (Orsay)
AUGER	T. Physique quantique et Relativité
MONNIER	T. Physiologie générale
PIVETEAU	T. Paléontologie
ROCARD	T. Physique (E.N.S.)
CARTAN	T. Mathématiques (E.N.S.)
LAFFITTE	T. Chimie générale
FAVARD	T. Géométrie supérieure
COULOMB	T. Physique du Globe
Mlle COUSIN	T. Biologie Animale (S.P.C.N.)
CHRETIEN	T. Chimie minérale
DRACH	T. Zoologie
KASTLER	T. Physique (E.N.S.)
EPHRUSSI	T. Génétique
RIVIERE	T. Géologie S.P.C.N. et Sédim.
GAUTHERET	T. Biologie Vég. (P.C.B.)
LUCAS R.	T. Recherches Physiques
THOMAS A.	T. Biologie cellulaire
ARNULF	T. Optique appliquée
MORAND	T. Physique Enseignement
SOLEILLET	T. Physique (P.C.B.)
FORTIER	T. Mécanique Exp. des Fluides
DANJON	T. Astronomie
PETIT	T. Biologie maritime
QUENEY	T. Météorologie et dynamique atmosphérique
GALLIEN	T. Embryologie
EICHHORN	T. Botanique
DE CUGNAC	T. Biologie Vég. (S.P.C.N.)
Mlle CAUCHOIS	T. Chimie physique
THELLIER	T. Physique du Globe
L'HERITIER	T. Biologie génér. (Orsay)
GRIVET	T. Radioélectricité (Orsay)
PONCIN	T. Mécanique générale
DUBREIL	T. Arithmétique et Théorie des nombres
QUELET	T. Chimie Organique
CAGNIARD	T. Géophysique appliquée
CHAMPETIER	T. Chimie macromoléculaire
CUVILLIER	T. Micropaléontologie
JUNG	T. Pétrographie
TRILLAT	T. Microscopie et diffraction électronique
WIEMANN	T. Chimie organique et struc.
JACQUINOT	T. Spectroscopie et Physique céleste (Orsay)
VASSY	T. Physique de l'atmosphère
DESTOUCHES	T. Théories physiques
AMIEL	T. Chimie générale
HOCART	T. Minéralogie et Cristallo.
J.P. MATHIEU	T. Physique optique
COUTEAUX	T. Biologie animale (P.C.B.)
MAY	T. Zoologie (Orsay)
CHOQUET	T. Théorie des fonctions et Topologie
FELDMANN	T. Biologie Végét. marine
GUINIER	T. Physique des Solides (Orsay)
JOST	T. Physiologie comparée
FORTET	T. Calcul des Probabilités et Phys. mathématique
SCHARTZ	T. Calcul diff. et Intégral
CHOUARD	T. Physiologie végétale
MALAVARD	T. Aviation (Techn. aéronaut.)
BRELOT	T. Calcul diff. et Intégral
NORMANT	T. Chimie organique
BENARD	T. Chimie minérale
BUVAT	T. Botanique (E.N.S.)
DUGUE	T. Statistiques Mathématiques
SOULAIRAC	T. Psychophysiologie
ULRICH	T. Physiologie végétale

MARECHAL	T. Optique théor. et appliq.
KIRRMANN	T. Théories chimiques
CHAEFAUD	T. Botanique
Mlle LE BRETON	T. Physiologie de la nutrition
SALEM	T. Mathématiques générales
LELONG	T. Application de l'analyse à la géométrie
DEVILLERS	T. Anatomie et Histologie comparées
EHRESMANN	T. Topologie Algébrique
FRANÇON	T. Physique (S.P.C.N.)
GLANGEAUD	T. Géographie Phys. et Géol. dynamique
GODEMENT	T. Mathématiques (M.P.C.)
PISOT	T. Tech. Mathém. de la Physique
ROCH	T. Géologie
SCHATZMAN	T. Astrophysique
TERMIER	T. Paléontologie stratig.
ZAMANSKY	T. Mathématiques générales
LENNUIER	T. Physique (M.G.P.)
RIZET	T. Génétique
ROUTHIER	T. Géologie appliquée
Mme TONNELAT	T. Physique théorique
DIXMIER	T. Mathématiques (M.P.C.)
SOUCHAY	T. Chimie générale
AIGRAIN	T. Electrotechnique générale
BRUSSET	T. Chimie systématique
M. LEVY	T. Physique théorique des hautes énergies (Orsay)
Mme CHAIX	T. Chimie biologique
Mme HUREL-PY	T. Biologie végétale (P.C.B.)
PIAUX	T. Chimie (M.P.C.)
BRUN	T. Mécanique théorique des fluides
LEDERER	T. Chimie biologique
Mme DUBREIL	T. Mathématiques (Agrég.)
Mme LELONG	T. Mathématiques II (E.N.S.)
BELLAIR	T. Géologie (S.P.C.N.)
COTTE	T. Physique électricité
DUBOIS J.E.	T. Chimie organique
LAMOTTE	T. Zoologie (E.N.S.)
MICHEL A.	T. Chimie minérale (Orsay)
OLMER	T. Energétique générale
ROUAULT	T. Electricité (Orsay)
GAUTHIER	T. Mécanique appliquée
BARCHEWITZ	T. Chimie Physique
BROSSEL	T. Physique atomique
BUSER	T. Physiologie comparée
CAMUS	T. Physiol. Végétale B.M.P.V.
CASTAING	T. Physique II Thermod. (Orsay)
CURIEN	T. Minéralo. et Cristallog.
MOYSE	T. Physiologie végétale (Orsay)
NOIROT	T. Evolution des Etres org.
PANNETIER	T. Chimie générale
POSSOMPES	T. Zoologie
PULLMANN	T. Chimie quantique
TEILLAC	T. Physique Nucl. et Radio-activité
TONNELAT	T. Biologie Physico-chim.
VILLE	T. Econométrie
WILLEMART	T. Chimie (P.C.B.)
DODE	T. Chimie (Orsay)
FREYMANN	T. Recherches Physiques
GUINOCHET	T. Biol. vég. S.P.C.N. (Orsay)
ROLLET	T. Chimie minérale
Mlle JOSIEN	T. Chimie S.P.C.N.
CHEVALLEY	T. Géométrie algéb. et théorie des groupes
ARNOULT	T. Electronique (Orsay)
CHAPELLE	T. Physique (Orsay)
DELANGE	T. Mathématiques I (Orsay)
DENY	T. Mathématiques Génér. (Orsay)
GERMAIN	T. Mécanique théor. des fluides
LUCAS G.	T. Géologie
ALLARD	T. Chimie Physique
BERTHELOT	T. Phys. des particules fond.
BRICART	T. Météor. et Phys. de l'Atmosphère
Mme ALBE-FESSARD	T. Psychophysiologie
FRIEDEL	T. Physique des Solides
FRIEDEL	T. (Orsay)
M. JULIA	T. Etude des Moléculaires naturelles complexes
LÉNDER	T. Biologie Anim. S.P.C.N. (Orsay)
MAGAT	T. Physico-Chimie des radio-éléments
Mlle QUINTIN	T. Electrochimie
MONOD	T. Chimie du métabolisme
BENOIT	T. Physiol. anim. (Orsay)
DE POSSEL	T. Analyse numérique
CHARLOT	T. Chimie analytique

LEMEE	T. Physiol. Vég. B.M.P.V. (Orsay)
GUERIN	T. Chimie M.P.C. (Orsay)
CHATELET M.	T. Chimie P.C.B.
JEAN	T. Physique Nucléaire (Orsay)
MATTLER	T. Physique S.P.C.N.
BERGERARD	T. Zoologie (Orsay)
BERTEIN	T. Electronique (Orsay)
BOUSSIÈRES	Chimie des radioéléments. (Orsay)
Mme COUTURE	T. Thermodynamique et Méc. Physique
ELLENBERGER	T. Géologie des grandes régions du globe
FRANC	T. Biologie animale P.C.B.
SCHNELL	Botanique tropicale
STOLKOWSKI	T. Physiologie végétale
ACHER	Chimie Biol. (Orsay)
BAUDOIN	Biologie animale B.C.P.
BEAUMONT	Biologie animale S.P.C.N.
BLAMONT	T. Géophysique ionosphère
BOURREAU	Botanique
CURIE D.	Physique M.G.P.
DURAND-DELGA	T. Géologie
FREON	T. Chimie organique (Orsay)
HELLER	T. Physiol. végétale
TORTRAT	T. Calcul des Probabilités
CAULLEUX	Géologie (S.P.C.N.)
MAGNAN	T. Physique (S.P.C.N.)
DAUDEL	T. Mécanique ondulatoire appliq. à la Chimie Théor. et à la Phys. Nucléaire
Mlle FOURCROY	Biologie Végétale (S.P.C.N.)
Mme CHOQUET-BRUHAT	T. Mécan. Analytique et mécan. céleste
Mlle VEIL	Physiologie Générale
LWOFF	T. Microbiologie
SIESTRUNCK	T. Mécan. Phys. et Expérим.
LACOMBE	T. Métallurg. des métaux Nucléaires
BROCHARD	T. Physique P.C.B. (Orsay)
CABANNES	T. Mécanique générale
LESIEUR	T. Mathématiques I (Orsay)
MAZET	T. Mécanique générale (Orsay)
CAIRE	Géographie Phys. et Géolog. Dynamique
COMOLET	T. Mécanique des fluides
CORABEUF	Physiologie animale (Orsay)
DELLOUE	Physique de l'exosphère
GORENFLOT	Botanique II (Orsay)
HOUILLOIN	Biologie animale P.C.B.
JULLIEN J.	Chimie S.P.C.N. (Orsay)
MALGRANGE	T. Techn. Math. de la Physique (Orsay)
OLIVIER	Anthropologie
NOZERAN	T. Botanique II (Orsay)
BLANC-LAPIERRE	T. Physique E.N.S. (Orsay)
CHEVAUGEON	T. Botanique (Orsay)
KAHANE	T. Mathématiques (Orsay)
SAMUEL	T. Mathématiques E.N.S. féminines
KOURGANOFF	T. Astronomie (Orsay)
THIRY	T. Mécanique céleste
ABELES	Physique S.P.S.C.N.
AMAT	Physique P.C.B.
AUBOIN	Géologie
Mme BENOIT-GUENTAL	Physique Nucl. et radioactivité
BOUGIS	Biologie marine (Villefranche-s-Mer)
BRUHAT	T. Mathématiques M.P.C.
BRUNN	T. Géologie historique (Orsay)
CHABBAL	Physique M.G.P. (Orsay)
DEHEUVELS	T. Mathématique Propé. (Orsay)
D'ESPAGNAT	Physique théorique (Orsay)
FURON	Géologie S.P.C.N.
Mme GANS	T. Génétique
GENEVES	Biologie végétale P.C.B.
GUILBERT	Physique (C.U.S. Orléans)
HUPE	Pétrographie
HOLLANDE	T. Biologie générale
LIONS	T. Analyse numérique
MAITTE	Chimie P.C.B.
MEYER	Physique propédeutique
NICOLAS	Géologie appliquée
PANIGEL	Biologie générale
RAVIER	Pétrographie
ROSEAU	T. Mécanique théorique des Fluides
ROUBINE	Electronique
SILBER	T. Chimie P.C.B.
UEBERSFELD	T. Electronique
YVON	T. Théories Physiques

Le Secrétaire général,
R. POULLAIN.

A Mon Président de Thèse

Monsieur J. André THOMAS

Professeur titulaire de la Chaire de Biologie Cellulaire
de la Faculté des Sciences de Paris
qui, en suivant mon travail avec beaucoup de sollicitu-
des, m'a aidé de ses conseils et de son autorité,
et qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence
du Jury de cette thèse.
Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude.

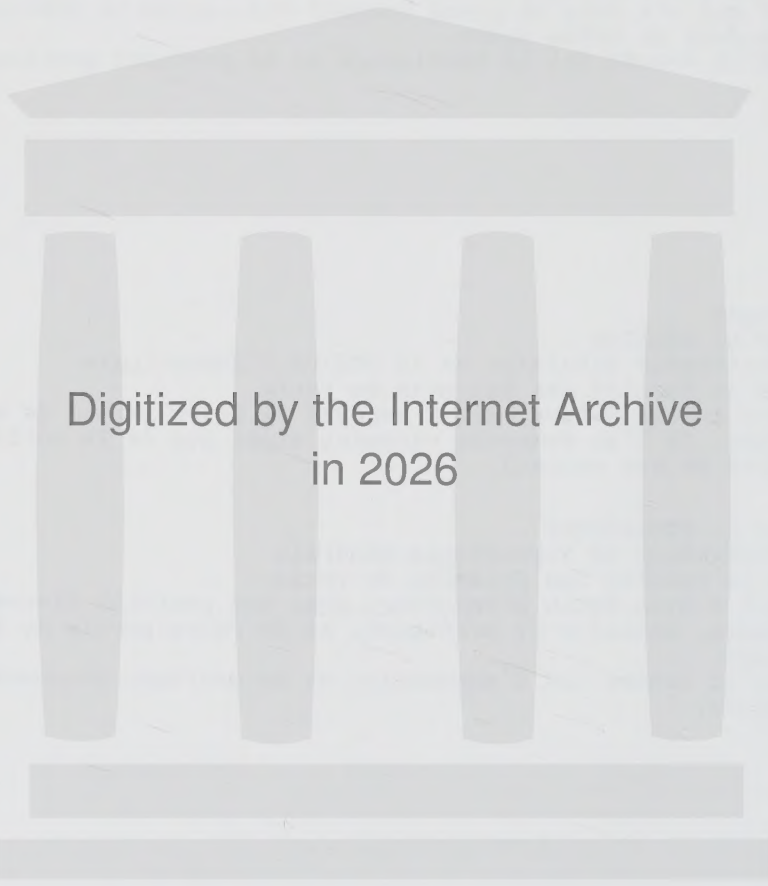
A Mes Juges

Monsieur L. GALLIEN

Professeur titulaire de la Chaire d'Embryologie
de la Faculté des Sciences de Paris
Mon Ancien Maître, qui a accepté de faire partie de mon
Jury. Je l'en remercie vivement ainsi que de la cordia-
lité de son accueil.

Monsieur J. STOLKOWSKI

Professeur de Physiologie Générale
à la Faculté des Sciences de Paris
qui a bien voulu m'apporter, avec une parfaite bienveil-
lance, conseils et critiques, et de faire partie de mon
Jury.
Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnais-
sance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A Monsieur J. BAILLET

Docteur en Médecine, Docteur-ès-Sciences
En qui j'ai cherché un maître, mais c'est un ami que
j'ai trouvé.
Il m'a inspiré le sujet de cette thèse et n'a ménagé
aucun sacrifice pour m'aider à la réaliser.
Qu'il accepte ici l'expression de ma fidèle reconnais-
sance.

A Monsieur Ph. LAUDAT

Docteur en Pharmacie, Chef du Centre de Recherches
sur le Métabolisme Lipidique (I.N.H.),
qui m'a prodigué ses précieux conseils, aides tech-
niques et financières dans les travaux avec les Indi-
cateurs nucléaires.
Qu'il accepte ici l'expression de ma vive gratitude.

A Monsieur R. ARDRY (Centre de Recherches Biosul)

Docteur en Pharmacie, Docteur-ès-Sciences
qui m'a guidé dans la présentation de ces travaux,
et qui m'a laissé bénéficier de sa grande expérience
en Immunochimie tissulaire.
Qu'il accepte ici l'expression de mon profond atta-
chement.

A tous mes Amis

Qui ont contribué directement ou indirectement
à la réalisation de ce travail.

A tous mes anciens Maîtres de Paris, Saigon, Tây-Ninh

Qui m'ont instruit depuis mon enfance.

A Mes Chers Parents

Qui ont fait beaucoup de sacrifices pour mes
études.

Qu'ils acceptent ici l'expression de ma reconnaissance émue et affectueuse.

TABLE DES MATIERES

	Pages
<u>INTRODUCTION</u>	1
Chapitre I. Historique : Classement des études antécédentes	4
Chapitre II. Objet du travail	13
<u>1ère PARTIE : MATERIEL ET TECHNIQUES</u>	18
Chapitre I. I) Caractéristiques des souches de souris utilisées	19
II) Technique de néphrectomie	21
Chapitre II. Marquage de l'ADN par la thymidine radioactive tritiée	23
Chapitre III. I) Dosage du désoxy-ribose lié à l'ADN rénal	26
II) Dosage du ribose lié à l'ARN rénal	30
Chapitre IV. Préparation des extraits de tissus isologues en voie d'hypertrophie rénale compensatrice	35
Chapitre V. Dosage du glycogène rénal	37
Chapitre VI. I) Injection dans le cisterna-magna de la souris	41
II) Marquage des protéines cérébrales par l'acide glutamique radioactif C-14	44
Chapitre VII. Emploi de la réserpine comme mobilisateur des monoamines du système nerveux central	50
Chapitre VIII. Dosage des protéines intracellulaires rénales	52
Chapitre IX . Microtechniques de précipitation en gélose	55
Chapitre X. Technique de ligature de l'uretère du rein gauche et de ligature partielle du pédicule rénal du rein droit en hypertrophie compensatrice	71
<u>2ème PARTIE : RESULTATS EXPERIMENTAUX</u>	79
Chapitre I. Analyses statistiques des résultats	80
Chapitre II. Hypertrophie rénale compensatrice du 15ème au 60ème jour après mononéphrectomie	85
Chapitre III. Recherche des meilleurs paramètres expérimentaux pour l'étude de l'hypertrophie rénale compensatrice au cours des premiers jours	90

	Pages
I) Reproductibilité des résultats en hypertrophie rénale compensatrice	90
II) L'hypertrophie rénale compensatrice du 1er au 15ème jour après mono-néphrectomie	94
III) La meilleure heure de néphrectomie	108
Chapitre IV. I) L'hypertrophie rénale compensatrice pendant les 3 premiers jours après néphrectomie	112
II) Courbe du glycogène du 1er au 3ème jour d'hypertrophie rénale compensatrice	118
III) Résultats des dosages des protéines intracellulaires rénales en hypertrophie rénale compensatrice	120
Chapitre V. Modifications de l'Eau, de l'ARN, de l'ADN par des injections d'extraits de tissus d'animaux isologues en voie d'hypertrophie rénale compensatrice	123
Chapitre VI. Incorporation de l'acide glutamique radioactif C-14 dans les protéines cérébrales les 3e jours après néphrectomie.	132
Chapitre VII. Action de la réserpine sur l'hypertrophie rénale compensatrice	138
Chapitre VIII. Résultats des analyses immunologiques	143
Chapitre IX. Action de la ligature de l'uretère du rein gauche et de la ligature partielle du pédicule rénal du rein droit en hypertrophie compensatrice	154
Chapitre X. Recherche du facteur informateur de l'hypertrophie rénale compensatrice. Action de la décapsulation du rein hypertrophié, de la phénolisation de son pédicule, des injections de globulines anti-rein	167
<u>3ème PARTIE</u> : ETUDE CRITIQUE DE NOS RESULTATS EXPERIMENTAUX	185
I. Discussion critique de la méthode adoptée pour l'étude quantitative de l'HRC	186
II. Comparaison critique des résultats expérimentaux avec celles des études antérieures	190
III. Validité de notre étude analytique du conditionnement de l'hypertrophie rénale compensatrice	198

	Pages
<u>4ème PARTIE : DISCUSSIONS GENERALES</u>	204
I. Rappel des faits et hypothèses connexes liées à l'hypertrophie rénale compensatrice	205
1) Phénomènes locaux dans la régulation tissulaire	205
2) Hypothèse de substances humorales guidant la régulation tissulaire	206
3) Rôle éventuel des phénomènes immunitaires (travaux de Weiss et d'Osgood)	214
4) Rôle du système nerveux dans la régulation tissulaire	218
5) Notion d'action nucléocytoplasmique rétrograde	229
6) Problème de cellules souches	230
7) Le problème connexe de la régénération	232
8) Le problème du développement de l'oeuf fécondé	235
II. Interprétations générales	244
1) Rôle de facteurs locaux	244
2) Rôle de facteurs humoraux	249
3) Rôle de facteurs immunitaires	250
4) Rôle de facteurs nerveux	254
<u>CONCLUSIONS GENERALES</u>	262
I. Résumé synthétique	263
II. Conclusions finales	265
BIBLIOGRAPHIE	267

I N T R O D U C T I O N

L'hypertrophie compensatrice comprend l'ensemble des phénomènes de croissance que déclenche l'ablation soit d'une part d'un organe unique, soit d'un des 2 organes pairs. Ces phénomènes se poursuivent rapidement jusqu'à la reconstitution d'une masse de tissu suffisante pour permettre au parenchyme restant d'assurer l'accomplissement des fonctions dévolues à l'organe. Il y a croissance puis multiplication des divers types cellulaires spécifiques, sans qu'il y ait modification de l'architecture interne du tissu considéré.

Si on extirpe un des 2 reins, le rein qui reste augmente de poids. Ce phénomène est appelé généralement "Hypertrophie Rénale compensatrice", terme malheureux par son imprécision et par sa signification incomplète du phénomène.

Les très nombreux auteurs qui ont étudié l'hypertrophie rénale compensatrice (HRC) se sont presque toujours attachés à décrire le phénomène dans sa phase tardive, l'organe ayant atteint un poids maximum et définitif : 260 jours (Braun-Menendez 1952). D'autres étudient le phénomène à un stade plus précoce : 16 jours (Halpern 1951). Nous avons, au contraire, analysé l'HRC à son stade initial, afin de nous approcher des problèmes du mécanisme et du déterminisme de l'HRC de 1 à 3 jours : c'est une échelle de temps des premières multiplications cellulaires normales, in vivo, chez les mammifères.

Nous présentons successivement dans ce travail :

- Dans l'introduction : l'évolution des connaissances acquises en HRC, et nous dirons comment nous entendons étudier celle-ci.
- Dans la première partie : le matériel et les techniques d'investigations adoptées pour conduire nos expérimentations personnelles.
- Dans la deuxième partie : les résultats expérimentaux obtenus. Nous insistons spécialement sur les conditions de travail très sévères absolument nécessaires à la parfaite reproductibilité des résultats.
- La troisième partie fera l'objet de l'étude critique des résultats obtenus.
- La quatrième partie sera réservée pour les discussions générales.
- Nous en tirerons des conclusions sur le mécanisme et le déterminisme de l'HRC chez la souris, conclusions qui, comme nous le verrons, dépasseront le cadre de ce travail, rejoignant le problème de la division cellulaire normale chez les mammifères.

CHAPITRE I

HISTORIQUE

(CLASSEMENT DES ETUDES ANTECEDENTES)

L'hypertrophie rénale compensatrice est l'augmentation de poids et de volume du rein restant après l'ablation de l'autre. Du point de vue histologique, ce phénomène a été démontré depuis presque trois siècles, par Zambeccarii (1670) et Blancard (1690), puis par Conhaire (1833) qui a prouvé que chez le chien, le rein restant après mononéphrectomie augmente d'un tiers de son volume.

En 1839, Valentin observant ce phénomène chez le lapin, conclut à une augmentation du contenu en sang et en constituants urinaux.

Même jusqu'à une époque très récente, on ne savait pas si l'HRC est (ou n'est pas) une augmentation du volume des cellules avec néoformation de glomérules et de canaux urinaux.

Rokitansky (1857) pense qu'il s'agit d'un accroissement de l'épithélium et allongement des canalicules. Rosenstein (1871), Vogel admettent l'existence d'une hyperplasie sans pouvoir la démontrer.

Beckman (1856) provoque l'atrophie d'un rein après ligature d'un urètre chez la poule et croit mettre en évidence l'hypertrophie du rein homologue.

Pour Perl (1872) l'HRC est due plutôt à l'augmentation de volume des cellules des tubes contournées sans modification notable des glomérules; c'est à cette même conclusion qu'aboutit Gudden en 1876 à la suite de l'étude des effets de la ligature urétérale.

De nouvelles recherches apportent encore des controverses : les auteurs sont partisans de l'hypertrophie : TORRES (1878), GRAWITZ et ISRAEL (1882), PODWYSOTSKI (1887), ECKARDT (1888), de PAOLI (1891), FIORI (1901), DEBENNEDETTI (1911), BERTI (1921). Par contre, la théorie de l'hyperplasie est admise par RIBBERT (1882) (1896), GOLGI (1882), WOLFF (1900), MAUGEAIS (1908), PUTZU (1908), TILJ (1912) et CARNOT (1913). TUFFIER (1888), ZANETTI (1911) pensent à la néoformation glomérulaire, alors que TILLMANN (1879) envisage une hypertrophie qui serait tout à la fois tubulaire et glomérulaire. LORENZ (1886), GALEOTTI et VILLA-SANTA (1902) prétendent que l'hyperplasie et l'hypertrophie existeraient seulement chez les jeunes, alors que chez les adultes on verrait simplement une hypertrophie.

En 1926, ARATAKI conclut dans un travail très documenté sur le rat qu'il n'y a pas d'augmentation du nombre des glomérules, seuls les tubes contournés présentent de l'hypertrophie et de l'hyperplasie. En 1926, BAYLE étudiant l'HRC chez le lapin, nie de même la néoformation glomérulaire et tubulaire, admet l'accroissement de la taille des glomérules, du nombre des cellules des tubes.

En 1938, CARNOT et MAY démontrent par l'injection de colchicine que le maximum de fréquence de mitoses se situe une semaine après l'ablation du rein opposé, principalement

au niveau du segment proximal du néphron. HERLANT (1949) employant la même technique constate une hyperplasie du néphron et tout particulièrement du segment proximal.

Après de longues contradictions, les recherches histologiques aboutissent à la réalité de l'hyperplasie, sans toutefois pouvoir en mesurer l'intensité.

MOREL et VERLIAC (1913) remarquent que l'hypertrophie est considérable entre le 4^e et le 10^e jour, se manifestent encore à partir du 20^e jour. AMBARD et PAPIN (1909), A. WEILL (1931) arrivent à la même conclusion. ADDIS et LEW (1940) ajoutent que la courbe de croissance du rein restant commence à s'aplatir du 20^e jour, à devenir asymptotique à partir du 40^e jour.

BRAUN-MENENDEZ (1953) constate que le poids du rein restant après mononéphrectomie augmente rapidement pendant les 2 à 3 semaines qui suivent l'opération, qu'il y a une grande dilatation de l'espace de Bowmann, des tubules, avec agrandissements des glomérules et des cellules tubulaires. Le nouvel équilibre est atteint quand le rein restant correspond à 80% du poids de celui qui fut enlevé, au bout de 3 à 4 semaines. Ainsi les études histologiques et pondérales ont décrit les sièges de l'hyperplasie et le rythme de l'hypertrophie.

DUCAN ROLLASON ((1949) mesure le poids du rein en hypertrophie en fonction de la surface corporelle chez le rat, selon la formule $S = KW^{2/3}$, où S = Surface corporelle en cm², W = poids du rein hypertrophié en g. Il constate que W augmente pendant les 20 premiers jours après néphrectomie unilatérale, et qu'il n'y a pratiquement plus d'augmentation à partir du 20^e jour au 56^e jour.

SULKIN N.M. (1949), étudiant l'index mitotique dans le rein hypertrophié du rat, constate la présence de fréquentes cellules binucléées, 24 heures après la mononéphrectomie, ceci dans le cortex. L'auteur note au bout de 20 jours les diverses variations de l'indice dans les régions des tubes proximaux, et contournés.

OGAWA K., SINCLAIR J.G. (1958) étudient l'activité mitotique dans le cortex, médulla externe, médulla interne du rein de rat après mononéphrectomie. Ils démontrent que l'activité mitotique de ces 2 régions augmente considérablement 2 jours après la néphrectomie. Une 2ème explosion mitotique apparaît vers le 7è jour, surtout dans la médulla externe.

BECKER N.H., OGAWA K. (1959) utilisent la cytophotométrie pour évaluer le taux d'ADN par noyau rénal en hypertrophie compensatrice chez le rat. Les auteurs ont noté fréquemment les noyaux di et tétraphoïdes au 3è jour après mononéphrectomie, et l'absence de ces noyaux à partir du 10è jour.

Récemment, WILLIAMS G.E.G. (1961) montre chez le rat une augmentation de l'activité mitotique rénale en hypertrophie compensatrice à la 40è heure, très fortes au niveau des tubules proximales, plus faible au niveau des tubules distales. L'activité mitotique la plus grande revient au cortex rénal; les mitoses sont rares dans la médulla interne. Il n'y a pas de changements observables au niveau des membranes basales des tubules.

Du point de vue physiologique :

a/ HRC et fonctionnement rénal : ADDIS, MYERS et OLIVER (1924) ont constaté que, chez le lapin mononéphrectomisé,

la clearance de l'urée est de 63% de la valeur préopératoire entre le 15^e et le 35^e jour, de 79% au bout de 4 mois, sans toutefois atteindre la valeur de 100%. Autrement dit, le rein restant n'atteint pas la capacité fonctionnelle des 2 reins préexistants.

Egalement en 1926, AMBARD et BENOIT étudient le phénomène chez les chiens, trouvent qu'il n'y a pas de parallélisme entre l'accroissement très important de la valeur fonctionnelle des reins (augmentation de la constante uréo-sécrétoire de 40 à 80%) et l'augmentation relativement très faible du poids du rein "hypertrophié".

KARSNER (1934), étudiant la variation de clearance uréique chez les chiens après néphrectomie unilatérale, constate une restauration proche de la normale dans les 6 mois qui suivent l'ablation du rein.

Chez l'homme, VAN SLYKE (1934) observe un retour de la clearance à des valeurs normales. ELLIS (1933) signale 11 cas de restauration de clearance de 70 à 129% de la normale.

Plus récemment, BRAUN-MENENDEZ et CHIOLDI (1947) démontrent par l'étude des clearances de l'inuline et du diodrast chez le rat, que dès le 15^e jour après la néphrectomie, le rein restant devient capable d'accomplir 70% de la filtration glomérulaire et de l'excrétion tubulaire, puis l'accroissement de l'excrétion est plus lente, une valeur équivalente à 80% des possibilités excrétoires n'étant seulement atteinte qu'au 3^e mois.

VAN SLYKE (1934) a mesuré la consommation d'oxygène du rein s'hypertrophiant : 73% de la valeur des 2 reins d'un

chien normal. Le rein hypertrophié utilise donc de l'oxygène dans les proportions analogues à celles de sa fonction excrétoire.

Ces estimations sont complétées par DEJOURS (1950) dans l'étude sur l'adaptation pondérale et fonctionnelle du rein à la surcharge des cristalloïdes chez le rat.

b/ HRC et influence hormonale

1 - Hormones thyroïdiennes. SELYE, STONE, NIELSEN et LEBLOND (1945) étudient l'effet de la thyroxine sur l'HRC. L'administration de 200 grammes de thyroxine per os et par jours, pendant 20 jours, après une néphrectomie, entraîne une augmentation de poids du rein restant, nettement plus considérable que celle observée chez les animaux non traités. L'examen histologique montre une augmentation du diamètre des glomérules, une hypertrophie et hyperplasie des tubules.

HERLANT (1949) évalue les index mitotiques au niveau des reins normaux ou en voie d'HRC chez des sujets soit thyroïdectomisés, soit traités à la thyroxine ou à un antithyroïdien de synthèse : la propylthiouracile. La thyroxine accroît les mitoses du rein s'hypertrophiant, et ceci au niveau de tous les segments des tubes urinaires. La thyroïdectomie freine l'HRC, le thiouracile exerce des effets similaires.

MAC QUEENS, WILLIAMS et THOMSON (1940) et ZECKMER obtiennent des résultats contraires, selon lesquels l'ablation de la thyroïde n'altère pas la capacité du rein de s'hypertrophier. Ceci s'explique-t-il par la présence de reste de thyroïde ou de thyroïde aberrante après la thyroïdectomie ?

2 - Action des androgènes

En 1933, KORENCHEWSKY et Coll. ont montré que chez le rat castré, le poids des reins diminue. Ce phénomène est étudié par MAC KAY (1955) qui constate 34 jours après la néphrectomie effectuée chez des rats une HRC plus importante chez des animaux ayant reçu des injections de propionate de testostérone. LATTIMER (1942) confirme ces résultats, sacrifiant les animaux 58 jours après l'ablation d'un rein. SELYE (1945), administrant à des rats de la méthyltestostérone pendant les 20 jours qui suivent la néphrectomie, constate seulement un léger effet d'hypertrophie et d'hyperplasie des tubules de néphron.

Récemment, HALPERN et COURNOT (1951), administrant du propionate de testostérone pendant les 16 jours qui suivent l'ablation du rein, étudient l'index mitotique après injection de colchicine, ne trouvent pas qu'il y a augmentation de cellules normales. Ils concluent que le gain de poids, d'azote protéique et d'azote nucléaire au niveau du rein hypertrophié traité à la testostérone, correspond à un accroissement de la masse cytoplasmatique. Ils interprètent les modifications tubulaires, accroissement du diamètre et réduction en la lumière comme conséquence de l'accroissement cytoplasmatique. Ces auteurs attachent l'action de la testostérone sur le rein aux phénomènes anaboliques que provoque l'hormone androgène et ne pensent pas qu'il s'agit d'une action reinotrope.

3 - Action de l'hypophyse

SELYE (1945), MAC QUEENS, WILLIAMS, THOMSON (1940), GONZALES (1938), WINTERNITZ et WATERS (1940) constatent que l'hypophysectomie freine l'HRC, mais ne l'inhibe pas

complètement. COLLONGE (1944) conclut à l'inhibition totale du phénomène. Par contre, FONTAINE et WEIL (1947) observent qu'après une inhibition passagère le rein de l'animal hypophysectomisé récupère sa faculté à s'hypertrophier.

c/ HRC et apport alimentaire protéique

GROSS et STRICKER (1941) comparent l'effet d'un régime contenant 8% de caséine et 48% de caséine sur l'HRC. Ils constatent que 40 jours après la néphrectomie, le rein restant présente un poids nettement plus élevé chez les animaux qui ont été soumis à un apport protéique plus élevé. La précision de la mesure a-t-elle été suffisante pour confirmer cette augmentation relative à l'HRC. On sait en effet que l'accroissement du poids de rein sous l'effet d'un régime riche en protéines a été signalé par MAC KAY LL., ADDIS T., MAC KAY EM (1937), SMITH et MOISE (1927), JACOB (1953), sans que son homologue soit enlevé au préalable.

D'un autre côté, MANDEL P., Madame MANDEL L., Mlle JACOB M. (1950) ont montré qu'il y a dissociation entre le phénomène d'hypertrophie (accroissement du cytoplasme rénal) et le phénomène d'hyperplasie (prolifération des noyaux) dans le tissu rénal après mononéphrectomie, ceci par l'artifice du jeûne protéique. Selon ces auteurs, le jeûne protéique entraîne une réduction de l'hypertrophie alors que l'hyperplasie ne semble pas modifiée chez les rats.

Du point de vue biochimique :

MANDEL (1955) a réuni les modalités d'HRC "Influence hormonale" et "apport alimentaire protéique" dans sa thèse

"Recherche sur la biochimie de l'HRC", dont la conclusion principale est : le jeûne protéique est sans action sur l'hypertrophie rénale compensatrice.

En résumé :

Lorsqu'on fait une mononéphrectomie, le rein restant augmente de volume. Cette augmentation pondérale correspond à une augmentation du parenchyme : il n'y a pas de formation de nouveaux néphrons. Les tubules et les vaisseaux augmentent de taille sans augmenter le nombre de leurs ramifications. L'accroissement du tissu conjonctif porte plus sur la zone périphérique que l'interne, de sorte que l'organe régénéré est plus fragile.

C'est un phénomène comparable à l'hypertrophie compensatrice du foie, mais celle-ci se propage plus vite. Si l'HRC est lente, sa régulation fonctionnelle du rein est par contre rapide, grâce à l'existence du 1/3 de néphrons non fonctionnels dans chaque rein.

Le rein, comme le foie, cesse de croître quand ils ont atteint la valeur des 80% de la masse à l'origine. Si on les mutile à nouveau, ils ont la capacité de s'hypertrophier à nouveau et ainsi de suite.

On a observé qu'il n'y a pas de polyploïdie dans le rein hypertrophié et qu'il n'y a pas de production de cellules malignes.

Les hormones provoquent en HRC soit l'hypertrophie cytoplasmique, soit l'hyperplasie nucléaire.

Le jeûne protéinique n'a pas d'action sur l'HRC.

CHAPITRE II

OBJET DE NOTRE TRAVAIL

Après mononéphrectomie, on note donc une augmentation de poids du rein restant. Il a été confirmé que cette augmentation pondérale est bien le résultat, non d'une réaction vasculaire, mais d'une multiplication cellulaire. Les études d'HRC se résument dans la Fig. 1, imitée de BRAUN-MENENDEZ (1953) :

- a. Croissance du rein témoin durant les 60 jours d'expérimentation
- b. Croissance plus rapide du rein en hypertrophie compensatrice pendant cette même période.

Ces résultats peu explicites en apparence proviennent d'un très grand nombre d'animaux. Ils peuvent être reconnus comme très valables, car dotés d'un bon intervalle de confiance selon les calculs de statistiques. A notre avis, ils peuvent être critiqués du fait que : 1/ des pesées sont toujours entachées de nombreuses erreurs à cause des teneurs variables en eau, en sang, en résidus aponévrotiques; 2/ les prélèvements partiels de tissu rénal, dont on connaît la texture hétérogène, est bien connue, ne peuvent manquer d'être dissemblables. Ces observations plaident donc à l'encontre de la validité des résultats rapportés par ces auteurs.

Les auteurs qui se sont penchés sur ce problème reconnaissent les difficultés de ces études qui sont principalement :

a/ La gêne causée par l'accroissement "normal" du rein restant, en fonction du temps, même s'il n'est pas soumis à un état d'hypertrophie compensatrice.

b/ La non-identité des deux reins d'un même animal à l'encontre de ce qui était admis par la plupart des auteurs pour rendre possible la résolution d'un problème présentant plus d'inconnues que d'équations (BINET, DEJOURS et LACAISSÉ, 1950).

c/ Les mouvements d'eau rénale en période d'hypertrophie compensatrice, ce qui rend les pesées peu significatives. La gêne est d'autant plus grande que ces mouvements sont très variables dans la journée (voir 2ème partie, chapitre V).

Nous avons toutes nos études sur une souche de souris isologues dont nous avons vérifié la constance du rapport des acides désoxyribonucléiques du rein droit entier, à ceux du rein gauche, soit le rapport :

$$R = \frac{\text{ADN du Rd}}{\text{ADN du Rg}}$$

Examinant nos résultats à travers la constante du rapport des acides désoxyribonucléiques, nous évitons les écueils dûs aux mouvements d'eau et résolvons du même coup la part d'incertitude existant lorsque le nombre d'équations est inférieure au nombre d'inconnues : ceci est capital, car

le fond du problème est de comparer un rein en hypertrophie compensatrice avec lui-même, lors de l'ablation de l'autre; l'exactitude et la reproductibilité des résultats dépendent de cette résolution.

Au surplus, pour mieux assurer nos résultats, nous rapportons constamment le rapport R d'une souris en HRC, soit RH, au rapport RL d'une souris témoin lombotomisée, mais non néphrectomisée, soumise aux mêmes conditions d'expérience.

RL s'écarte toujours de la constante R d'une souris normale, ceci étant dû aux mitoses occasionnées par le choc opératoire.

Toutes les valeurs de RH inférieures à RL, même supérieures à R, ne sont donc pas valables. Et nous exprimons l'HRC par le rapport RH/RL, celui-ci pour être valable doit être toujours supérieur à l'unité.

Pour chaque courbe d'hypertrophie, nous utilisons un nombre suffisant d'animaux de même portée pour que les courbes d'évolution se dégagent avec netteté des variations individuelles de chaque rapport R.

Nous employons ce mode d'expression de résultats pour suivre quelques phénomènes biochimiques qui conduisent à l'installation du phénomène de l'HRC.

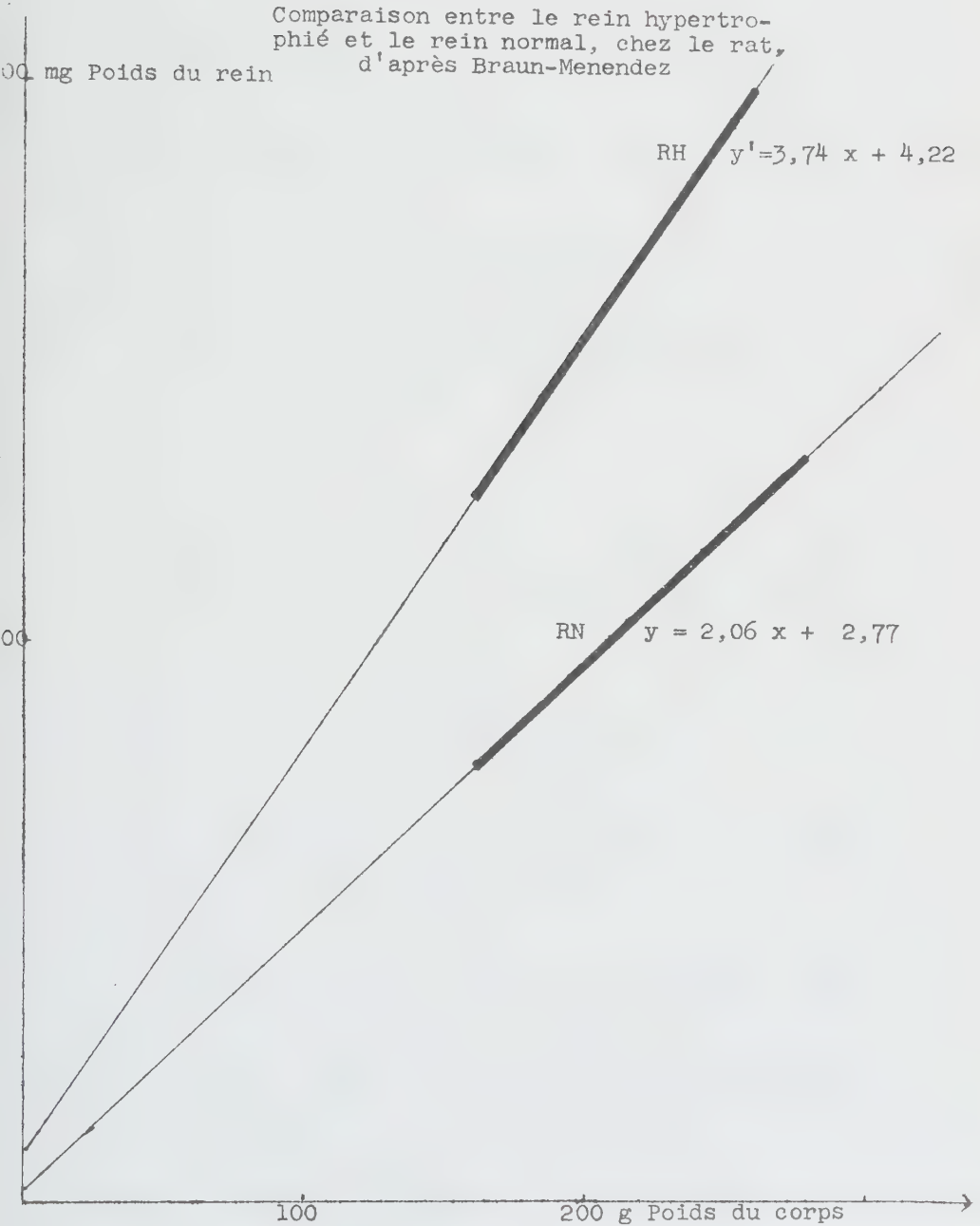
a/ Chez l'animal récemment placé en HRC, nous modifions l'évolution de cette HRC par des injections d'extraits tissulaires variés qui sont, en quelque sorte, des greffes isologues et particulièrement des éléments du système enzymatique cérébral d'un animal placé lui-même en HRC.

b/ Nous étudions la vitesse de renouvellement des protéines de la région mésencéphalo-hypothalamique, avant et après l'emploi de la réserpine, mobilisatrice des monoamines du système nerveux central et nous contrôlons l'évolution de l'ADN rénal dans les deux cas.

c/ Nous ferons de même pour discerner la part de mitoses d'HRC provenant de l'hypertrophie compensatrice et non de la néphrectomie par l'expérience de la ligature de l'uretère du rein hypertrophié.

d/ Nous rechercherons le facteur informateur de l'HRC en faisant les expérimentations suivantes : décapsulation du rein hypertrophié, phénolisation de son pédicule, injection de diverses globulines anti-rein.

VARIATIONS DU POIDS DU REIN EN
FONCTION DU POIDS DU CORPS



1ère P A R T I E

M A T E R I E L E T T E C H N I Q U E S

CHAPITRE I

I - CARACTERISTIQUES DES SOUCHES DE SOURIS UTILISEES

Nous avons fixé notre choix sur la souche de souris isologues noires (C57 RCH), provenant de la Fondation Curie (a).

Il s'agit d'une souche de souris noire "C57 black", génétiquement déterminée, venant du Royal Cancer Hospital, d'où la dénomination RCH, de Londres, élevée depuis 1921 jusqu'à 1960, soit environ 60 générations, avec un rythme de reproduction de contrôle de 2 par an environ (SNELL, 1960).

Cette souche C57 RCH présente une constante génétique particulièrement intéressante pour nos travaux : deux reins de développement homogène, très sensibles à la mononéphrectomie, très pesants, alors que les reins des souris blanches du commerce de souche génétiquement indéterminée, improprement appelées souris suisses, présentent des reins beaucoup plus petits, et de fréquentes agénésies rénales unilatérales, ce qui rend très variable le rapport :

poids du rein droit/poids du rein gauche, constante que nous devons absolument posséder avant de faire une mononéphrectomie en vue d'une mesure de l'HRC.

Les valeurs de cette constante sont rapportées dans la 2ème partie, Chapitre III.

(a) 26 rue d'Ulm - Paris 5°. Nous exprimons nos vifs remerciements à Monsieur le Docteur Rudali de nous l'avoir donnée.

Nous avons donc utilisé des souris noires C57 RCH de 3 mois environ, pesant généralement 27 g, de sexe indifférent, mais toujours de préférence de même portée et de même sexe dans une même série d'expériences, bien qu'il nous semble que cette dernière précaution soit superflue; toutes nos mesures d'HRC sont faites par convention sur le rein droit (Rd) par rapport au rein gauche (Rg), soit RH, qui est à nouveau rapporté à un rapport témoin d'une souris lombotomisée traitée dans des conditions identiques, soit RL.

- $RH = Rd/Rg$ de l'animal néphrectomisé
- $RL = Rd/Rg$ de l'animal lombotomisé
- $HRC = RH/RL$

Tous ces animaux sont élevés dans des conditions thermiques identiques, d'alimentation équilibrée, de boisson dosée et d'éclairement très sombre avant et surtout pendant toute la durée de l'expérience, car comme nous verrons par la suite, le taux de mitoses rénales après néphrectomie dépend pour beaucoup de l'éclairement, et probablement aussi des bruits environnants, d'où l'importance du paramètre : heure de néphrectomie que nous allons déterminer et observer pour toutes les expériences.

Nous n'emploierons pas d'animaux âgés, car, au delà de 6 mois, cette souche présente la particularité des reins polykystiques (RUDALI, 1960).

Il est à noter que le rein d'une souris C57 RCH de 3 mois (27 g environ) pèse beaucoup plus lourd qu'un rein de souris quelconque d'un même poids : 200 mg contre 150 mg.

II - TECHNIQUE DE NEPHRECTOMIE

La souris est anesthésiée par une injection intrapéritonéale d'une solution de Rectanol préparée comme suit :

- Rectanol (a)..... 2,5 ml.

à verser goutte à goutte dans 100 ml d'eau distillée à 80°C en agitant.

On isotonise le soluté en additionnant 0,9 g de chlorure de sodium.

On injecte 0,8 ml par 100 g de poids, soit 0,2 ml pour une souris de 25 g. Cette anesthésie dure 15 minutes.

La néphrectomie est toujours faite du côté gauche. La souris anesthésiée est fixée à plat ventre sur une planchette de liège. Après rasage des poils de la région lombaire gauche, une incision de 1 cm est pratiquée, suivie de celle des muscles de la paroi postérieure de l'abdomen dans l'angle costo-vertébral. Le rein est alors énucléé, recueilli par une pince de Kocher, séparé de ses ligaments et de la graisse périrénale.

On prend soin de ne pas extirper la rate, les surrénales. Un fil est placé sur le paquet vasculo-nerveux du pédicule rénal, le rein est enlevé par le passage du bistouri à ras de la surface latérale, horizontale, supérieure de la pince de Kocher, c'est-à-dire au-dessus de la ligature. On referme l'ouverture dorsale par 4 ligatures sur deux plans en prenant soin de ne pas suspendre ou accrocher la ligature du pédicule rénal, cela occasionnerait de l'hypertension.

(a) Laboratoires Robert et Carrières - 1 avenue de Villars
Paris 17°

C'est une opération rapide qui permet de néphrectomiser 4 bêtes tous les quarts d'heure. La mortalité opératoire est de l'ordre de 1%, dûe exclusivement aux accidents d'anesthésie.

Le prélèvement du rein restant, s'hypertrophiant, sera effectué à des délais variables, selon le même mode opératoire, mais après strangulation par passage d'une petite corde au cou. Ce mode de sacrifice purge le rein de son sang, limite les contaminations sériques ainsi que les petites molécules radioactives injectées, mais non encore incorporées dans de grosses molécules au moment du sacrifice.

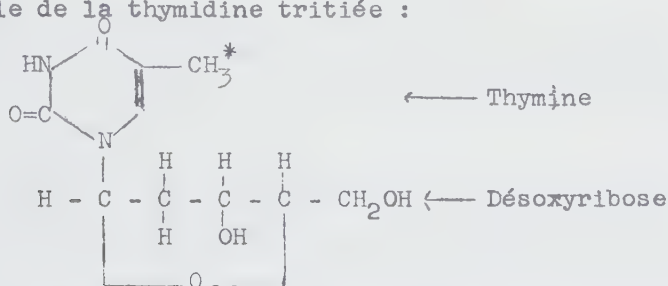
Chaque souris néphrectomisée est accompagnée de son témoin lombotomisée non néphrectomisée, traitée et élevée dans les mêmes conditions.

CHAPITRE II

MARQUAGE DE L'ADN PAR LA THYMIDINE RADIOACTIVE TRITIÉE

La thymidine est un des constituants des nucléotides d'acides désoxyribonucléiques. Elle est formée par l'union de la thymine à noyau pyridinique au désoxyribose, sucre à 5 carbones. La molécule est rendue radioactive par l'irradiation aux neutrons (a).

Formule de la thymidine tritiée :



La thymidine tritiée est livrée par ampoule scellée de 1000 microcuries dans 0,65 ml d'eau distillée, correspondant à 0,04 mg/ampoule.

On pratique une dilution au 10^è (0,1 ml de solution mère + 0,9 ml d'eau distillée) qu'on garde à + 4°C et qu'on tiédit à 37° C avant les injections aux souris.

L'injection est intrapéritonéale, elle s'effectue avec une seringue à insuline : 0,5 ml de la dilution au 10^è, soit :

(a) Fournie par "The radio chemical center, Amersham, Buckinghamshire, England" par l'intermédiaire du "Groupement d'importations des produits pharmaceutiques, 46 rue Turbigo Paris.

$$\frac{1000}{0,65} \times \frac{0,5}{10 \times 10} = 7,7 \text{ micro-curies}$$

Après chaque néphrectomie unilatérale ou après chaque lombotomie témoin.

Les animaux en HRC sont sacrifiés à des instants différents : mais toujours 3 jours après l'injection de la thymidine tritiée.

Les acides nucléiques sont extraits selon la méthode de Schneider décrite dans le chapitre suivant.

Le comptage de la thymidine incorporée sur l'ADN se fera selon Steinberg (1960) qui utilise les cristaux d'anthracène hautement purifié comme scintillateurs.

Le tritium est un émetteur de rayonnements Bêta de faible énergie, le parcours, dans l'eau, est de l'ordre du micron seulement, d'énergie maximale de 0,015 Mev. Il s'agit donc de faire la conversion en énergie lumineuse de l'énergie cinétique des rayonnements Bêta émis : on emploie à cet effet des cristaux d'anthracène qui absorbent les rayonnements Bêta et, de ce fait, se trouvent dans un état excité. Ils reviennent au repos en émettant des photons gamma que captent les photomultiplicateurs, d'où comptage de l'émission radioactive.

On réfrigère à -20° C pour diminuer le mouvement propre. Dans les travaux de comptage d'éléments radioactifs de basse énergie sur les tissus, le grand ennui, c'est l'effet du quenching ou affaiblissement du comptage, qui occasionne une perte d'énergie lumineuse par absorption, par suite de la présence de l'hémoglobine. Cependant, dans nos expériences, il est à remarquer que les pigments tétrapyrroliques

ont été éliminés par des lavages successifs lors de l'extraction.

La confection du mélange de comptage se fait comme suit;

Dans un flacon spécial, à bouchon à vis en bakélite, on met:

- Extrait trichloracétique 2 ml (Cf. chap. suivant)
- Acide trichloracétique 5% 1 ml
- du Mouillant, Triton ou Teepol 5%.. V gouttes normales
- Anthracène hautement purifié 1 g

On fait tomber les cristaux d'anthracène à l'aide d'une attache-trombone de bureau, démontée et recourbée à angle droit, en les enfonçant au sein du mélange trichloracétique mouillant. Quand la suspension de cristaux d'anthracène est réalisée, on met les flacons de comptage à réfrigérer à -20° C.

Chaque série de comptage comporte un tube témoin d'acide trichloracétique de lavage qui doit être exempt de souillure de thymidine tritiée non incorporée dans l'ADN, et un flacon d'acide trichloracétique à 5% qui sert de comptage du mouvement propre de l'installation.

Nous nous servons de l'installation de comptage radioactif automatique du Centre de Recherches sur le métabolisme lipidique (I.N.H.) (a).

(a) Hopital Broussais, 96 rue Didot, Paris, dans le service de Monsieur le Professeur de Gennes, à qui vont nos remerciements.

CHAPITRE III

I - DOSAGE DU DESOXYRIBOSE LIE A L'ADN RENAL (a)

On commence par extraire les acides nucléiques ADN et ARN selon la méthode de Schneider, c'est-à-dire de la manière suivante :

On broie le rein entier, haché au préalable par un bistouri sur une lame de microscopie, avec du sable de Fontainebleau (b) et à l'agitateur servant de pilon, dans un tube de 5 ml qui sert pour toute l'extraction, sans aucun transvasement. On épuise les substances acido-solubles par de l'acide trichloracétique 7% refroidi à 0° C + 0,5 ml de suspension de kaolin neutre de 20 % refroidi dont le rôle est de colmater solidement le culot durant toute l'extraction. Un témoin à blanc en présence de kaolin neutre montre que celui-ci est sans action sur l'extraction et les dosages qui vont suivre. Un travail à froid et rapide évite la perte des acides nucléiques lors des épuisements d'acido-solubles. On délipide avec l'alcool, l'éther, dessèche au bain marie à 50° C, sous courant d'air réalisé par aspiration avec une trompe à vide (Fig.II). De cette manière, on dessèche vite et ne court aucun risque de pertes dues au soubresauts, parfois violents, occasionnés par l'évaporation de l'éther au sein du culot.

On solubilise les acides nucléiques par 5 ml d'acide trichloracétique 5% pendant 15 mn, à 90° C. Dans ces conditions, les protéines ne sont pas dissoutes.

-
- (a) En réalité, il s'agit de doser du désoxypentose en général, car nous n'avons pas de raisons suffisantes pour croire que ces sucres en C5 sont uniquement du désoxyribose.
- (b) L'alumine ou la poudre de verre présentent un rendement d'écrasement moins intéressant.

Une partie aliquote de cet extrait (1 ml/5 ml) sert au dosage du désoxyribose lié à l'ADN rénal.

Le dosage proprement dit du désoxyribose lié à l'ADN rénal se fait selon la technique de Dische (1930) à la diphénylamine.

a/ Principe : la désoxyribose est transformée dans un milieu acétique sulfurique en aldéhyde lévulinique, celui-ci donne une coloration bleue stable, en présence diphénylamine.

b/ Le mode opératoire : on met dans un tube de 80/12/13:

- 1 ml de l'extrait trichloracétique
- 2 ml de réactif de Dische

On porte au bain marie 100° C, pendant 15 mn; il se développe une coloration bleu-violet. On refroidit, la couleur devient bleue. La lecture se fait par mesure en lumière rouge à 595 millimicrons, en comparaison avec le tube témoin à blanc ne contenant pas de rein :

- 1 ml d'acide trichloracétique 5% du tube témoin à blanc (a)
- ↳ 2 ml de réactif de Dische

soumis aux mêmes conditions que le tube dosage.

c/ Courbe d'étalon :

On emploie une solution mère comprenant 20 mg % de désoxyribose. On en fait une gamme d'étalons contenant :

25, 50, 100, 200 gammas/ml par dilutions successives par 2.

(a) ou simplement 1 ml d'acide trichloracétique 5% car le sable et le kaolin sont sans interférence sur ce dosage.

d/ Réactifs utilisés :

Le réactif de Dische se prépare de la façon suivante :

- | | |
|-----------------------------|---------|
| - Diphénylamine | 1 g |
| - Acide acétique glacial RP | 100 ml |
| - Acide sulfurique Merck | 2,75 ml |

Les produits utilisés doivent être extrêmement purs, et la solution obtenue limpide et incolore. Ce réactif doit être conservé à l'abri de la lumière.

e/ Note :

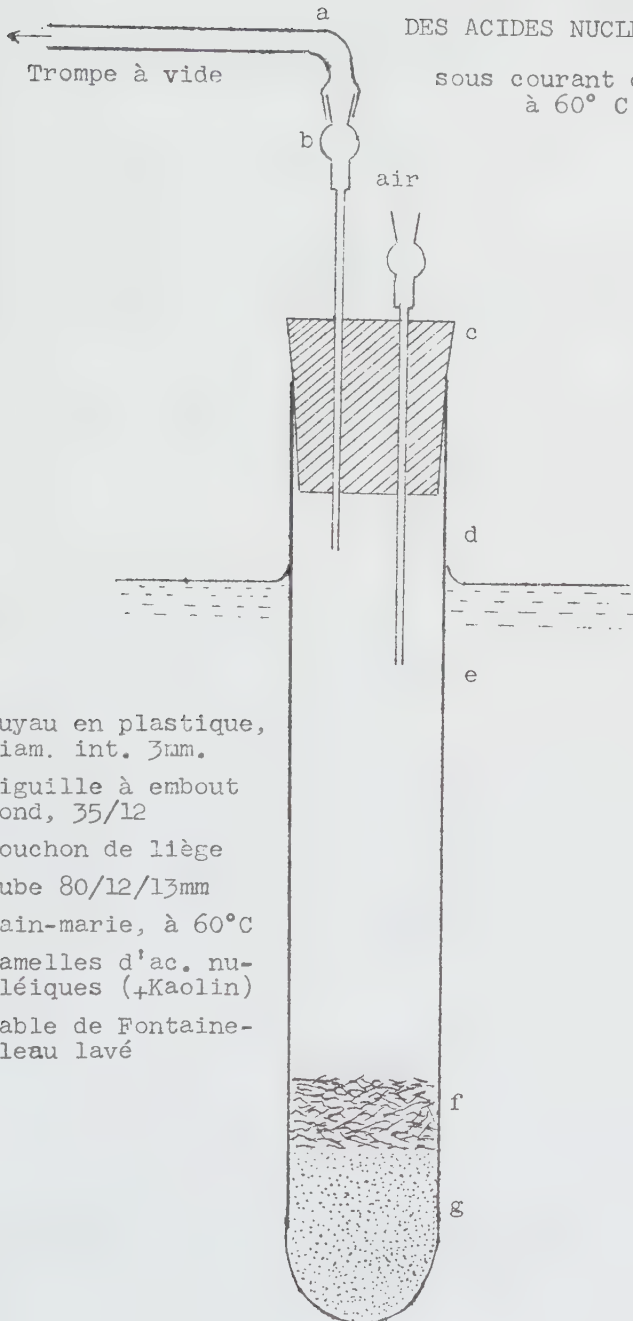
Pour notre gouverne, nous notons que le rapport désoxyribose/ADN est égal à $1/3$. Nous ne nous attardons pas à pratiquer un contrôle sévère d'extraction, de dosage ou d'é-talonnage en matière d'acides nucléiques par d'autres méthodes, car notre but final est de faire de simples comparai-sons en ADN entre les reins hypertrophiés et leur témoin : la comparaison est toujours valable si nous employons tou-jours la même technique d'appréciation.

Nos méthodes adaptées en tube à hémolyse permettent un travail rapide. Les résultats sont reconnus reproductibles et comparables à ceux fournis par les méthodes originelles.

Fig. 2

DISPOSITIFS POUR LA DESSICATION
DES ACIDES NUCLEIQUES

sous courant d'air, au bain-marie
à 60° C



- Tuyau en plastique, diam. int. 3mm.
- Aiguille à embout rond, 35/12
- Bouchon de liège
- Tube 80/12/13mm
- Bain-marie, à 60°C
- Lamelles d'ac. nucléiques (+Kaolin)
- Sable de Fontainebleau lavé

II - DOSAGE DU RIBOSE LIE A L'ARN RENAL (a)

Ce dosage se fait d'après la technique de Bial modifiée par Mejbaum (1939).

a/ Principe

Les pentoses sont transformées en présence d'acide minéral bouillant en furfurol, lequel donne avec l'orcinol (1 méthyl, 3,5 diphénol) en présence de chlorure ferrique un complexe fournissant une coloration verte stable.

b/ Mode opératoire : dans un tube de 18/12/3

- 1 ml d'extrait trichloracétique
- 1 ml d'un réactif à l'orcine

On agite, puis on porte le tube dans un bain-marie bouillant pendant 20 minutes. On laisse refroidir doucement à la température ordinaire du laboratoire. On extrait la coloration bleu-vert successivement par 3 x 1,5 ml d'alcool amylique et on complète à 5 ml. L'intensité de la coloration est déterminée au photocolorimètre à 660 millimicrons. La lecture est faite par rapport à un témoin contenant tous les réactifs dans les mêmes proportions que la solution analysée et 1 ml d'acide trichloracétique 5% soumis aux mêmes conditions que le contenu du tube Dosage.

c/ Courbe étalon :

La courbe étalon est faite avec une solution mère de ribose à 20 mg %. On en fait une gamme d'étalons contenant 25, 50, 100, 200 gammas/ml par dilutions successives par 2.

(a) En réalité, il s'agit de doser du pentose en général, car nous n'avons de raisons suffisantes pour croire que ces sucres en C₅ sont uniquement du ribose.

d/ Réactifs utilisés :

1 - La solution mère de chlorure ferrique se prépare comme suit :

- 2 cm³ d'une solution de Cl₃Fe à 18° Bé soit 44% de Cl₃Fe
- 20 mc³ HCl concentré

2 - Solution de Cl₃Fe à 1‰

- Solution mère de Cl₃Fe 3,3 cm³
- HCl concentré qsp à 100 cm³

Ces deux solutions sont conservées à l'obscurité.

3 - Réactif à l'orcine se préparant au moment de l'emploi :

- Orcine 0,2 g
- Solution de Cl₃Fe à 1‰/100 10 cm³

e/ Note :

Cette méthode de dosage est une application quantitative de la réaction colorée de Bial où le désoxyribose est dans un premier temps hydraté en acide lévulinique non cyclisable en furfural n'interférant plus par conséquent avec les réactions du ribose. Le désoxyribose donne toutefois une coloration jaune verdâtre égale à 1/8 de celle donnée par le ribose. Ceci n'a aucune interférence sur notre mode d'expression des résultats qui réside dans des comparaisons arbitraires.

Nota : Nous n'avons pas trouvé que l'extraction de la coloration par l'alcool anhylique apporte un avantage quelconque au dosage de l'ARN. Pour gagner du temps, on peut

opérer comme Mandel (1955) : quand la coloration vert émeraude est formée, on ajoute 2 ml d'eau distillée bouillante, refroidit et on pratique la lecture. Dans ce cas, il convient de préparer les blancs et les tubes étalons de la même façon.

Fig.3

DOSAGE DU DESOXYRIBOSE LIE A L'A.D.N. RENAL

Etalonnage sur le Spectral Junior des Ets Jouan, Cuve 10 mm,
à 595 m μ

Différence de D.O.
(Dosage-Blanc)

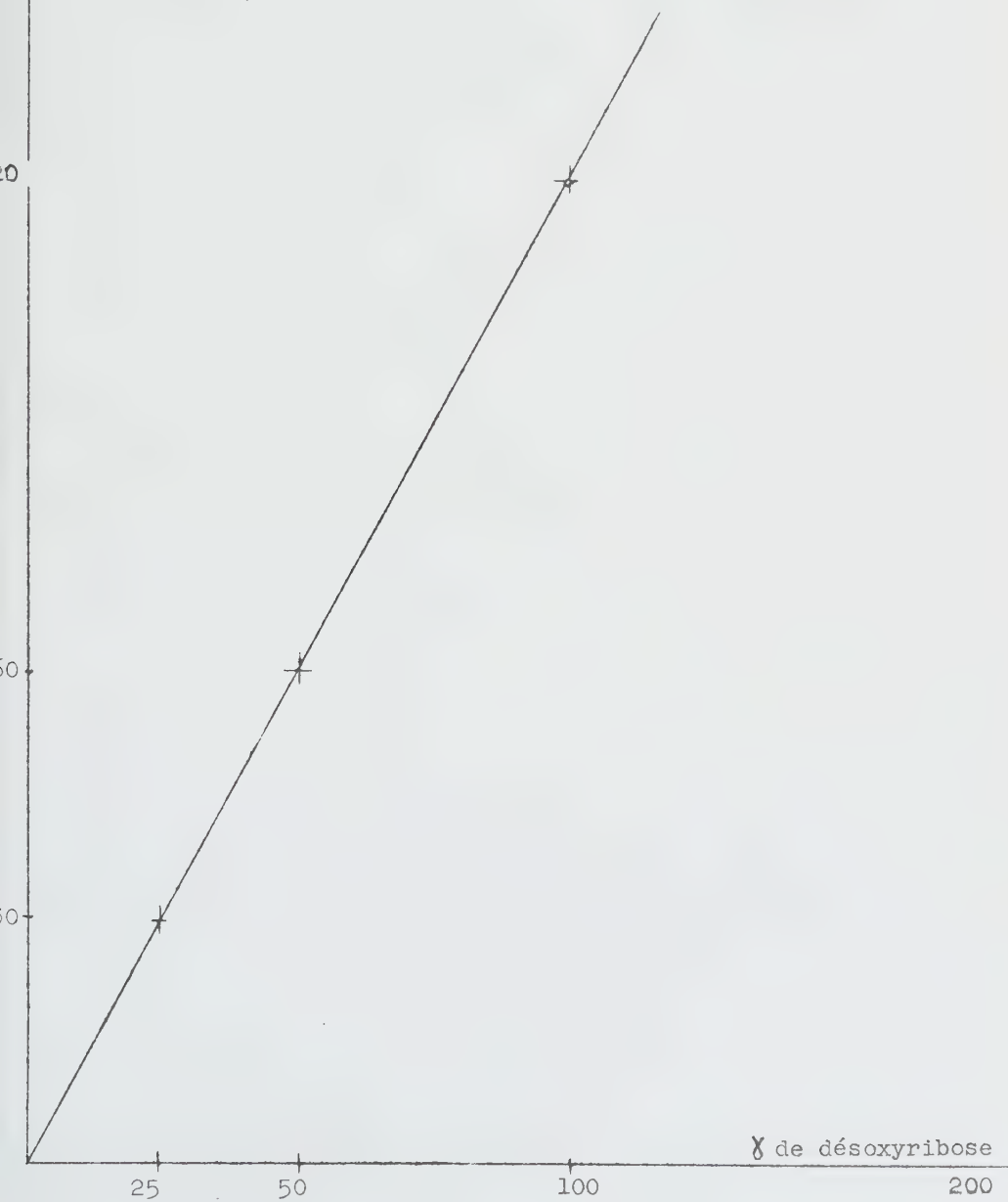
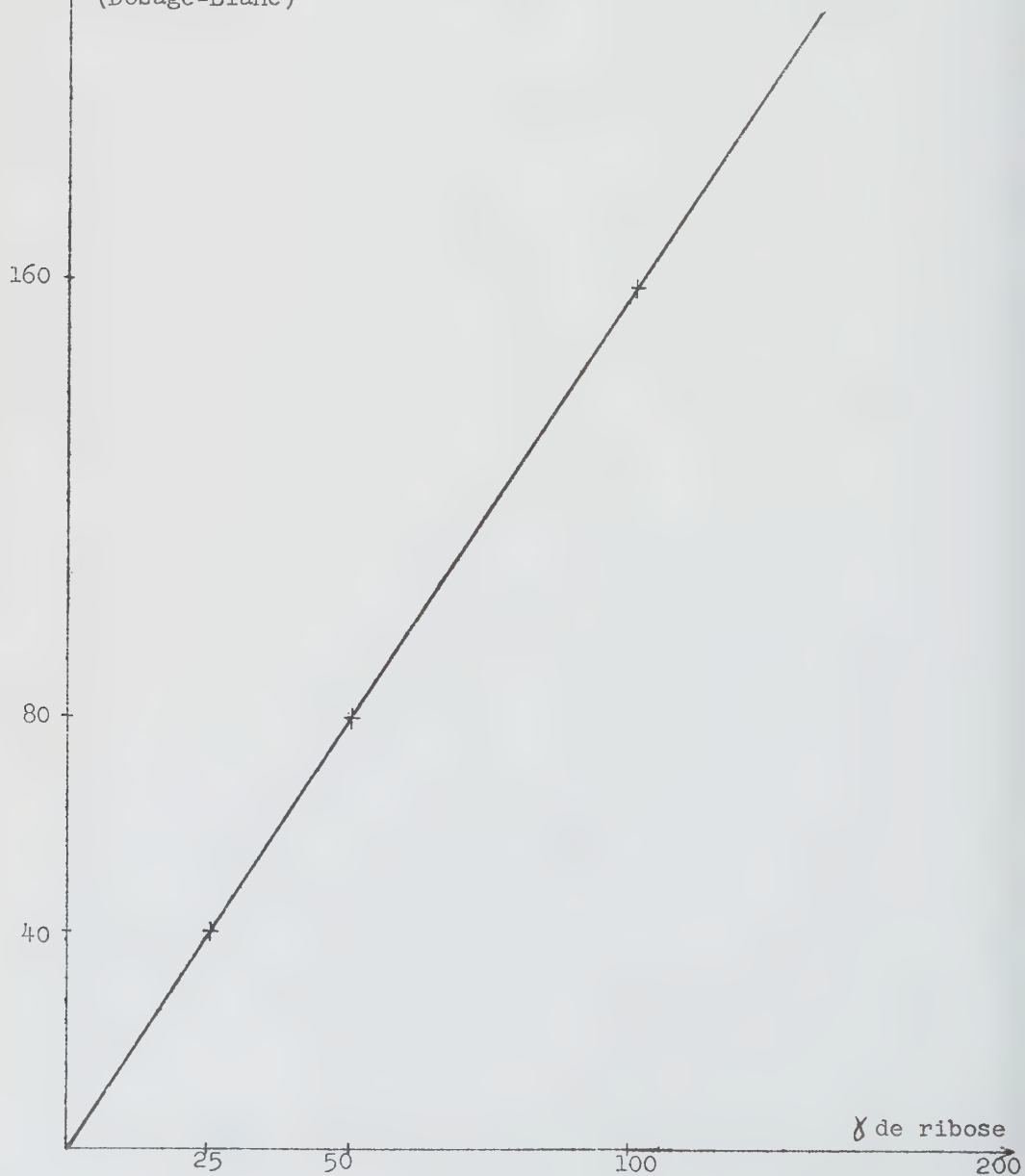


Fig. 4

DOSAGE DU RIBOSE LIÉ A L'ARN RENAL
Etalonnage sur le Spectral Junior des Ets
Jouan, Cuve 10mm, à 660 m μ

Différence de D.O.
(Dosage-Blanc)



CHAPITRE IV

PREPARATION DES EXTRAITS DE TISSUS ISOLOGUES EN VOIE D'HRC

Les souris noires de souche C57 RCH sont soumises à la néphrectomie unilatérale, selon la technique déjà décrite (1ère partie, chapitre I). L'opération de la néphrectomie est effectuée à 14 heures. Le choix de cette heure a son importance car les cycles mitotiques dépendent de l'heure de néphrectomie, et pour que les comparaisons gardent toutes leurs valeurs significatives, il importe de toujours demeurer dans les situations identiques (les raisons seront données dans la 2ème partie, chapitre III). Le 3ème jour, heure par heure, ces souris seront sacrifiées par strangulation et on prélève très rapidement l'uretère droit avec le ganglion aortico-rénal, le cerveau, l'antehypophyse, la post-hypophyse. On broie ces prélèvements dans un petit mortier de 70 mm de diamètre avec de la solution isotonique de ClNa à 9% en quantité suffisante pour chacun d'eux; les préparations seront désignées comme suit :

- UR = Uretère
- CV = Cerveau
- AH = Antehypophyse
- PH = Post-hypophyse

Par la suite, nous serons appelés à faire des extraits fractionnés de cerveau pour étudier l'activité propre de chaque zone. Nous emploierons la même technique mais nous disséquons le cerveau en 4 régions, chaque région est extraite par de la solution de ClNa à 9 ‰ en qsp à 5 ml.

H = Extrait des 2 hémisphères cérébraux

D = Extrait de la région diencéphalique

C = Extrait du cervelet

B = Extrait du bulbe

La préparation de ces extraits doit être faite rapidement, aussitôt après, on injecte 0,5 ml de ces extraits additionné de 0,15 unité d'hyaluronidase à des souris préalablement néphrectomisées ou lombotomisées.

Le sacrifice de l'animal en HRC, le prélèvement de ses organes, la préparation des extraits et les injections ne doivent pas dépasser 5 minutes.

Nous utilisons de préférence les extraits d'animaux de souche isologue, car une greffe isologue d'un système enzymatique à petites molécules est univoque. Il n'en est pas de même pour les grosses molécules dont les différences mêmes minimales de configuration des sites actifs pourraient retarder ou diminuer les copulations biochimiques in vivo. Cette spécificité enzymatique est largement développée dans les travaux de Stolkowski (1960).

CHAPITRE V

DOSAGE DU GLYCOGENE RENAL

Le dosage du glycogène rénal est fait d'après la technique d'extraction de Good, Kramer et Somogyi (1933) et selon une variante de la technique de dosage des monoses selon Fonty (1950).

a/ Principe :

On dose le glycogène après avoir dissous le tissu rénal dans la potasse et précipiter le glycogène par l'alcool. On purifie le glycogène, l'hydrolyse, puis on pratique le dosage des monoses de la façon suivante :

On dilue l'hydrolysate au centième , les sucres réducteurs réduisent partiellement à chaud une solution de ferricyanure en ferrocyanure; celui-ci est dosé photométriquement par formation du bleu de prusse maintenu à l'état colloïdal par addition de polyvinyl-pyrrolidone.

b/ Mode opératoire :

Le rein entier est haché au bistouri sur une lame de microscopie, introduit dans un tube de 18/12/13, broyé avec du sable de Fontainebleau à l'aide d'un agitateur. On ajoute 1 ml de KOH à 30%, on porte au bain-marie bouillant pour dissoudre le glycogène. On précipite en ajoutant 1,5 ml d'alcool à 95%. On chauffe au bain-marie jusqu'à ce que le mélange commence à bouillir. On refroidit dans de l'eau froide, on place une nuit à la glacière (modification de Wajgen

1939), centrifuge et jette le surnageant. On dessèche en évaporant les traces d'alcool à chaud et sous courant d'air avec le dispositif de la Fig. II.

Pour hydrolyser le glycogène, on chauffe au bain-marie bouillant pendant 2 heures avec 2 ml de $\text{SO}_4\text{H}_2\text{N(a)}$ complété au trait de jauge avec de l'eau distillée si besoin est. Pour doser les monoses, on commence par déféquer dans un tube jaugé à 5 ml :

Hydrolysats	0,05 ml
Eau distillée qsp à	5 ml

On mélange par retournements.

Dans un tube jaugé de 5 ml, on distribue :

Dilution d'hydrolysats	0,4 ml
Solution de Ferricyanure de K	0,2 ml
Réactif alcalin	0,2 ml

On porte au bain-marie bouillant 15 minutes, on refroidit vers 60° C, on ajoute et agite :

Mélange A + B	0,6 ml
---------------	--------

Après un repos de 10 minutes, une coloration bleue se forme. On complète avec de l'eau distillée à 5 ml, et on lit au photomètre avec un écran rouge foncé ou à 600 millimicrons. La lecture est faite par rapport à un "blanc". Les résultats trouvés après lecture doivent être redressés comme suit :

(a) Cette hydrolyse peut être faite seulement en 30 minutes vers 105 ° C, sous pression de vapeur d'eau (emploi de la marmite à vapeur SEB).

$$\text{Résultat après lecture} \times \underbrace{\frac{5}{0,4}}_a \times \underbrace{\frac{2}{0,05}}_b$$

c/ Courbe étalon :

L'étalonnage se fait à partir d'une solution de glucose de 0,020% . On en fait des étalons à 1, 2, 4, 8 gammas/0,4ml. par des dilutions successives par 2.

d/ Réactifs employés :

- Solution de ferricyanure de K à 2% . (stable à l'obscurité)

- Réactif alcalin :

CO_3Na_2 anhydre	3,200 g
CNK	0,600 g
Eau distillée	qsp 200 ml

- Solution ferrique

Sulfate ferrique	0,500 g
Acide phosphorique	75 ml
Eau distillée	qsp 500 ml

- Mélange A + B :

Solution ferrique	15 ml
Solution de subtosan à 3,25 g%	15 ml

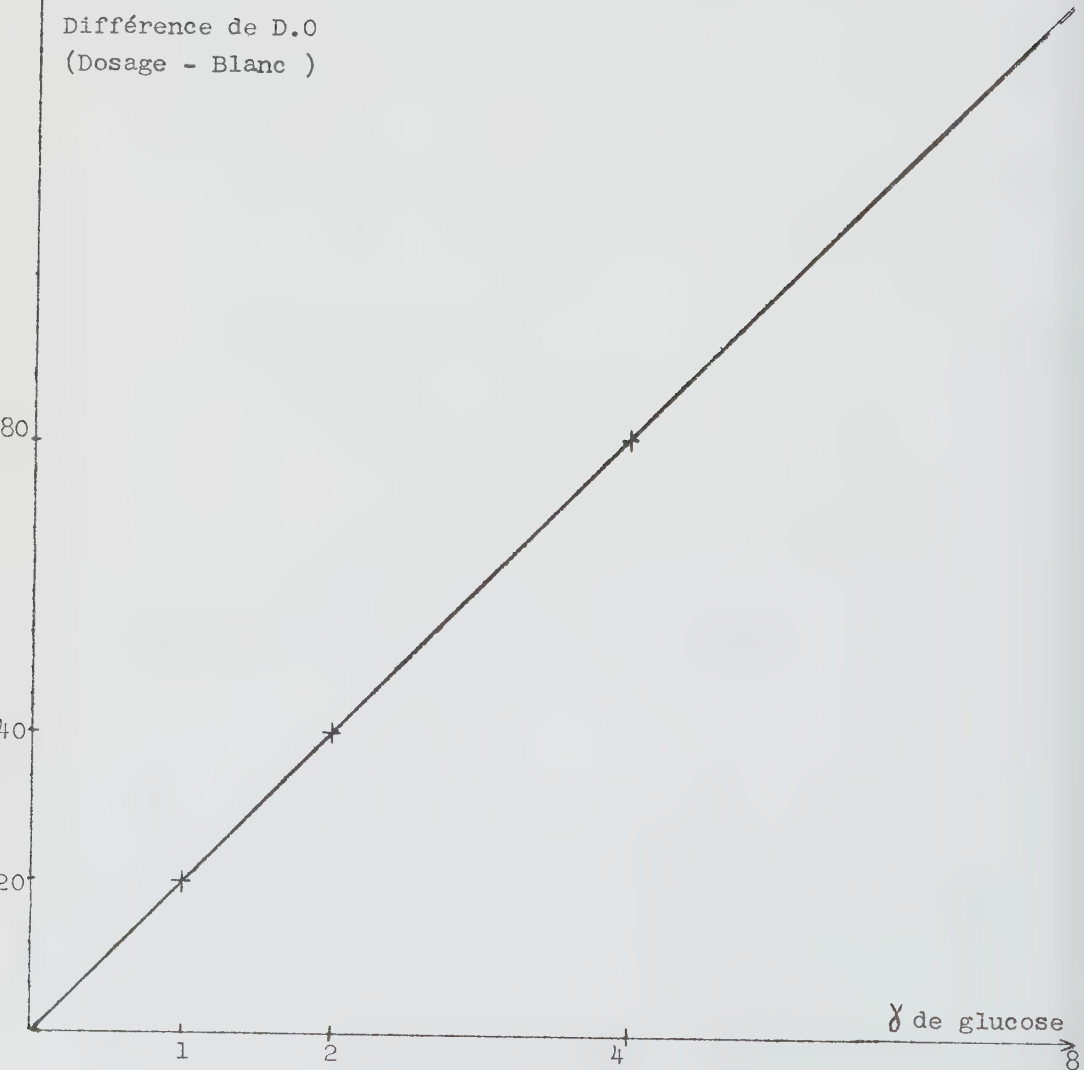
(a) Pour retrouver la quantité de monoses dans 0,05 ml d'hydrolysats.

(b) Pour retrouver la quantité de monoses dans 2 ml d'hydrolysats c'est-à-dire par rein entier.

Fig. 5

DOSAGE DU GLYCOGENE, EXPRIME EN GLUCOSE

Etalonnage sur le Spectral Junior des Ets
Jouan, Cuve 10mm, à 660 m μ



CHAPITRE VI

I - INJECTION DANS LE CISTERNA-MAGNA DE LA SOURIS

Plusieurs dénudations de la région postérieure du cou de la souris montrent que le cordon médullaire dans la région inter-occipito-atloïdienne est d'environ 1 mm de diamètre, et qu'une injection dans le cisterna-magna est possible.

Nous utilisons un appareil de contention facile à construire, reproduit dans la Fig. IV : 3 planches fixées par 6 clous.

La souris anesthésiée est fixée, couchée sur le ventre, selon un plan oblique, la tête recourbée presque à angle droit avec le corps, de manière à faire ressortir au toucher digital la protubérance occipitale externe.

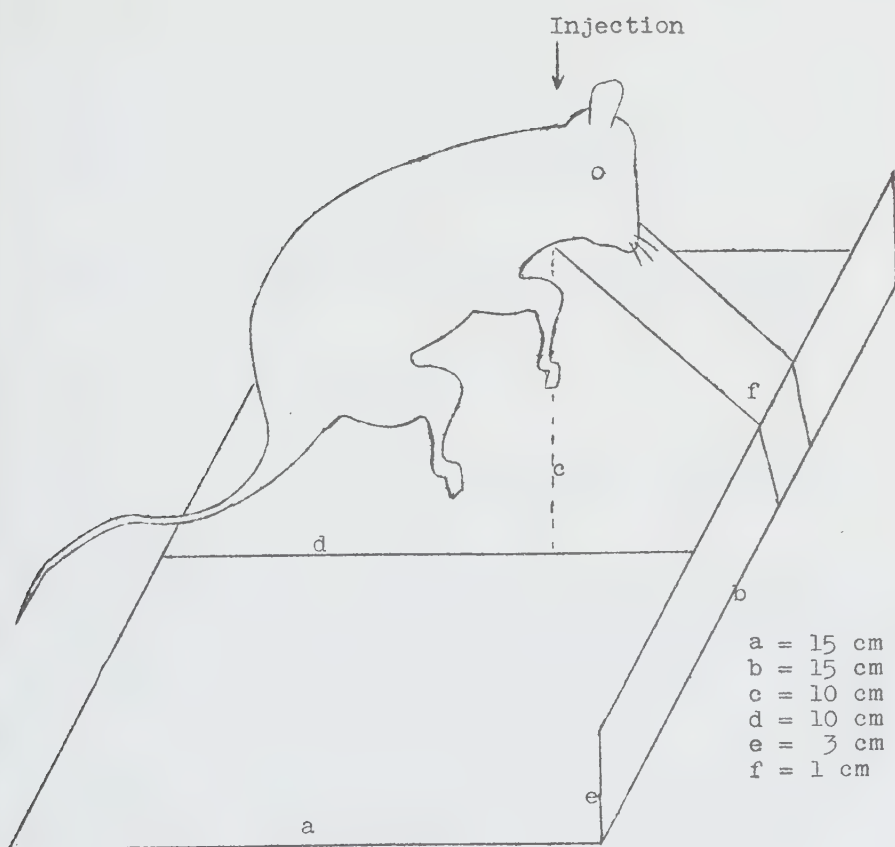
Plus bas, entre cette protubérance et l'épine épineuse de l'atlas, on remarque une dépression. L'aiguille doit être enfoncée dans le centre de cette dépression, lorsqu'elle entre dans le cisterna-magna à 2 ou 3 mm de la peau, on sent subitement diminuer la résistance. On peut alors injecter, très doucement, de la solution d'acide glutamique radioactif jusqu'à 0,020 ml sans risque de mortalité.

Une injection bien faite ne doit pas tressaillir la bête, et ne doit pas provoquer de formation de boule d'œdème et n'est jamais sanguinolente.

Nous utilisons des aiguilles fines à biseau écourté après meulage et la microseringue de 100 microlitres "Hamilton C^o", Whittier, Calif. U.S.A." à piston en acier inoxydable et comportant une course de piston d'une vingtaine de mm pour un volume de 20 microlitres. Cette microseringue nous permet de compter sur la précision des quantités à injecter.

Fig. 6

APPAREIL DE CONTENTION DES SOURIS
POUR LES INJECTIONS DANS LE CISTERNA MAGNA

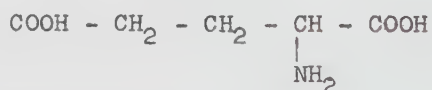


II - MARQUAGE DES PROTEINES CEREBRALES PAR L'ACIDE GLUTAMIQUE RADIOACTIF CI⁴

a/ Marquage proprement dit :

Friedberg et Coll. (1948) ont remarqué à juste titre que le taux de marquage radioactif des protéines cérébrales est plus élevé après injection intracisternale qu'intraveineuse. En effet, les petites molécules radioactives injectées par voie intraveineuse sont plus rapidement diluées et se maintiennent moins longtemps que dans la circulation sanguine. De ce fait, l'exposition du cerveau aux flux radioactif est de moindre durée. C'est pour cette raison qu'on adopte la voie intracisternale pour le marquage des protéines cérébrales.

L'acide glutamique est un diacide monoaminé en alpha à 5 carbones :



Son métabolisme est très important.

KIRSCH, de BRUX et ARDRY (1956) ont montré chez le lapin un accroissement de la teneur du cerveau en substances liées au métabolisme cérébral par l'injection à l'animal d'anticorps anti-cerveau. ACS, NEIDLE et WEALSCH (1961) démontrent que le tissu cérébral possède chez le cobaye un potentiel de synthèse des protéines aussi haut que celui du foie par l'incorporation des acides aminés radioactifs dans les protéines.

Le renouvellement des protéines cérébrales se fait se-

lon un rythme aussi rapide que celui des protéines des autres tissus et nous devrions oublier l'idée d'inertie dont on se fait à propos du cerveau, selon les termes de GAITONDE (1956).

L'acide glutamique C-14 est livré par le service des Molécules Marquées, du Commissariat à l'Energie Atomique, Boîte Postale n° 2, à GIF-sur-YVETTE (Seine et Oise), en ampoules de 0,1 millicurie, d'activité spécifique de 3 millicuries par millimole.

On dissout chaque ampoule dans 2 ml de solution de NaCl à 9 ‰, conserve à + 4° C et tiédit à 37° C avant les injections aux souris. On injecte dans le cisterna-magna, avec la microseringue Hamilton comme il fut mentionné dans le chapitre précédent, 20 microlitres, après chaque néphrectomie, ou après chaque lombotomie témoin, soit :

$$0,1 \text{ mC} \times \frac{1}{2} \times 0,020 = 0,001 \text{ mC} = 1 \text{ micro-Curie.}$$

Nous prélevons le cerveau toujours 3 jours après l'injection de l'acide glutamique radioactif, et après stangu-lation.

L'ouverture de la boîte crânienne se fait très aisément à la pince et aux ciseaux. Le cerveau épongé de son sang, mis sur une lame porte-objet de microscopie, est disséqué en 4 régions comme le montre la Fig. VII.

soit :

- H = Extrait des Hémisphères cérébraux
- D = Extrait de la région diencéphalique
- C = Extrait du Cervelet
- B = Extrait du Bulbe.

b/ Extraction des protéines cérébrales

Nous extrayons les protéines cérébrales de chaque prélèvement selon la technique de CHATAGNON (1960).

Les prélèvements sont lavés sous courant d'eau distillée glacée; en même temps, on enlève les méninges. Le lavage est une opération essentielle, contrôlée jusqu'à ce que les dernières traces de protéines sériques aient disparu (contrôle par précipitation à chaud des eaux de lavage par l'acide trichloracétique : 10 volumes d'eau de lavage portée à 90° C + 1 volume d'acide trichloracétique au tiers).

Nous traitons chaque prélèvement entier et nous nous basons sur le taux des protéines intracellulaires de chacun afin de calculer la radioactivité spécifique du prélèvement.

Chaque prélèvement soigneusement lavé est mis dans un tube à hémolyse de 18/12/13 mm avec une pincée de sable de Fontainebleau, écrasé par trituration contre le fond et les parois latérales avec un petit pilon (genre piston Potter Elvehjem).

Les protéines intracellulaires sont alors extraites jusqu'à épuisement avec de l'eau distillée (3 fois 1,5 ml et on en ajoute qsp à 5 ml). Une partie aliquote 1 ml/5 ml est mise à part pour le dosage des protéines selon la même technique que celle décrite dans la 1ère partie, chapitre VIII.

Les 4 ml d'extractif sont mis dans un tube à hémolyse de 18/12/13 mm à pH 4,5 avec de l'acide trichloracétique, placée à + 4° C pendant 1 heure, + V gouttes d'une suspension de kaolin neutre à 20% dont le rôle est d'adsorber les protéines. On centrifuge, jette le surnageant, lave 3 fois

le culot avec du tampon à pH 4,5 (a). On conserve toujours 3 ml de la dernière eau de lavage de chaque prélèvement afin de vérifier lors du comptage s'il y a des souillures d'acide glutamique radioactif libre.

On égoutte le culot, reprend par 3 fois 1 ml de NaOH (ajouter en qsp 3 ml si besoin est) chaque extractif est mis en totalité et directement dans le flacon de comptage radioactif.

Comme lors de l'extraction des acides nucléiques (1ère partie, chapitre III), on vérifie l'écrasement total des cellules en faisant un examen microscopique du culot d'extraction.

c/ Comptage radioactif de l'acide glutamique C-14 incorporé dans les protéines cérébrales :

Le mélange se fait selon la technique de Steinberg (1960) déjà mentionnée dans la 1ère partie, chapitre II.

Le C-14 est un émetteur de rayonnements Bêta d'énergie maximale dix fois plus grande que ceux du tritium, soit 0,15 Mev, donc rangé parmi les éléments à faible énergie.

La confection du mélange scintillant pour le comptage se fait de manière identique. On se souvient que présentement il s'agit d'une partie aliquote 4/5 d'extractif, il

(a) Tampon à pH 4,5 selon BRITTON et ROBINSON :

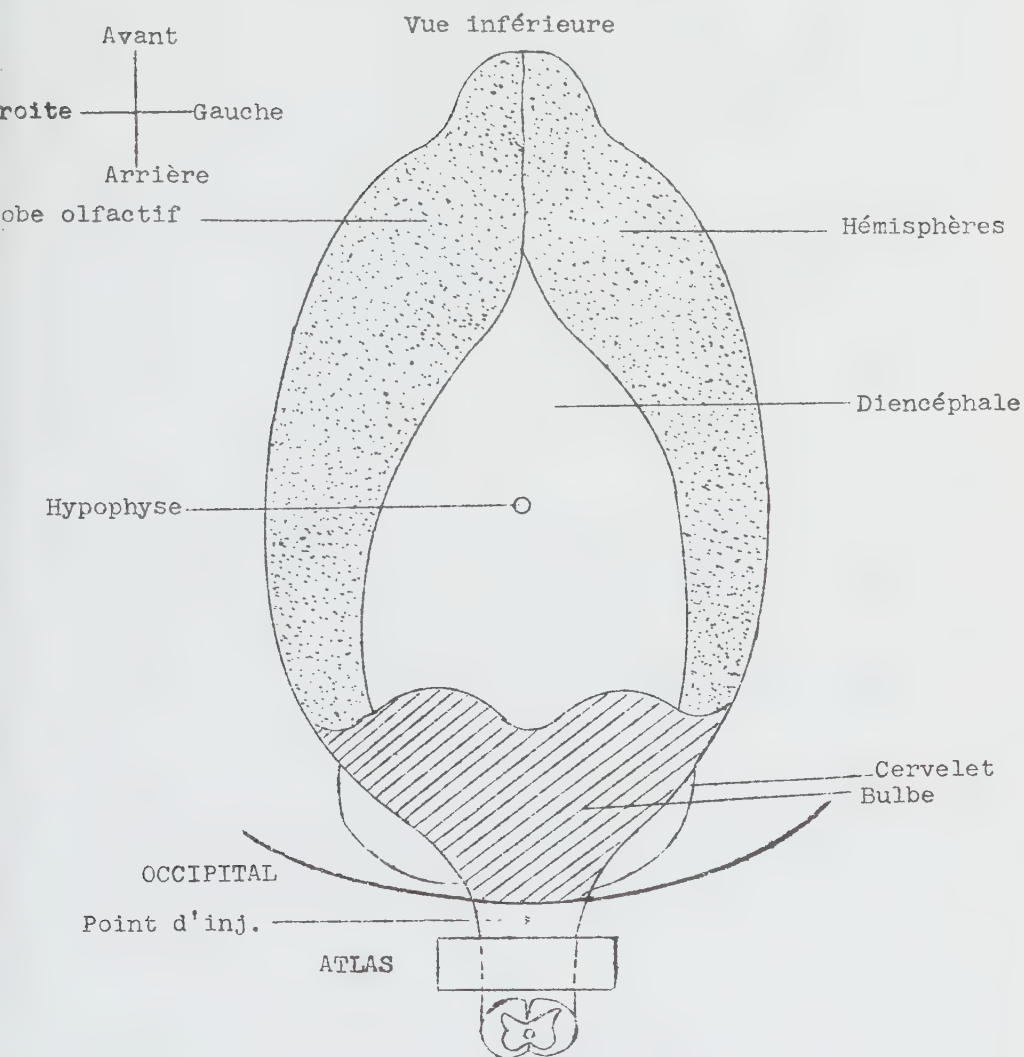
Mélange acide :	Acide Phosphorique pur	3,92 g
	Acide acétique pur	2,40 g
	Acide borique pur	2,48 g
Tampon à pH 4,5 =	Mélange acide	40 ml
	NaOH N/5	12 ml

faut donc redresser le chiffre de comptage par le coefficient $5/4$ pour avoir l'incorporation réelle de l'acide glutamique C-14 dans les protéines cérébrales de chaque prélèvement.

On fait toujours accompagner chaque série de comptage d'un tube témoin d'eau de lavage pour détecter des souillures d'acide glutamique C-14 libre, et d'un flacon destiné au comptage du mouvement propre.

On prend soin de réfrigérer le tout à -20° et le comptage du C-14 s'effectue sur l'installation de comptage radioactif du Centre National de Recherches sur le métabolisme lipidique, à l'Hôpital Broussais, à la haute tension de 1100 volts.

Fig. 7
CERVEAU DE SOURIS ADULTE



CHAPITRE VII

EMPLOI DE LA RESERPINE COMME MOBILISATEUR DES MONOAMINES DU

SYSTEME NERVEUX CENTRAL

BRODIE (1959) a démontré que le taux des monoamines du SNC monte ou descend selon les conditions biologiques, non seulement d'une manière absolue, mais aussi d'une manière relative; cela veut dire qu'après un changement des gradients de concentration des amines, l'activité de la cellule est influencée d'une manière quantitative ou qualitative. Les monoamines oxydases (MAO) qui attaquent ces amines, règlent leur gradient de concentration.

Les monoamines du SNC sont synthétisés, inactivés et excrétés par un système métabolique d'une remarquable complexité. Mais avec ZELLER (1961) nous pouvons dire, qu'à un moment donné, la distribution intracellulaire et les gradients de concentration d'un lot de monoamines, détermine l'activité biologique des cellules nerveuses.

Les principaux monoamines sont ; la 5-hydroxytryptamine, la noradrénaline, la dopamine qui provoquent dans le SNC des phénomènes neurophysiologiques difficilement interprétables. Il est ardu de déterminer leur rôle dans la fonction du SNC.

On sait cependant diminuer ou augmenter leur taux. Les mobilisateurs des monoamines sont la réserpine, les benzoquinolizines, qui diminuent la concentration des monoamines cérébrales. Les inhibiteurs de la MAO augmentent leur concentration. Ces substances ont permis d'effectuer des re-

cherches intéressantes selon LEUSEN (1961) dans le domaine de la neurophysiologie et de la neurochimie.

PLETSCHER (1956), PAASONEN (1958), CARLSSON (1958) ont démontré et confirmé que la réserpine possède une action centrale diminuant fortement et pour une période relativement longue la concentration des monoamines cérébrales.

C'est pour cette raison que nous allons employer la réserpine pour diminuer le métabolisme cérébral par mobilisation des amines, de préférence à l'anesthésie de l'animal ou sa mise sous coma barbiturique, pratiques très discutables.

Nous utilisons une solution de réserpine pur cristallisé à 37 mg % dans le soluté isotonique de NaCl à 9 ‰, en intrapéritonéale après chaque néphrectomie ou lombotomie, en raison de 5 gammas/g de souris, soit pour une souris de 37 g, 0,5 ml de la solution de réserpine.

Nous verrons dans la 2ème partie, chapitre VII, que l'HRC est inhibé par les injections de réserpine, alors que la colchicine antimitotique ne donne pas d'indications perceptibles pendant les 3 premiers jours de l'hypertrophie compensatrice, ceci étant dû à l'intercinese trop longue par rapport au temps de 3 jours, nous traiterons cette contradiction dans la 4ème partie.

CHAPITRE VIII

DOSAGE DES PROTEINES INTRACELLULAIRES

Le dosage des protéines se fait selon la méthode d'ARDRY (1949-60).

a/ Principe :

C'est une méthode colorimétrique utilisant la réaction du biuret avec un réactif sans tartrates, de conservation plus facile. Cette méthode dose les protéines d'une manière plus rapide que la méthode de GORNALL (1949).

La solution protéique additionnée de sulfate de cuivre et de soude donne une coloration violette stable dont, dans les conditions où l'on se place, l'intensité est proportionnelle à la concentration en protéines.

Cette coloration étant due aux liaisons peptidiques $-NH-CO-$; la réaction positive avec les polypeptides, risque de nous donner une réponse par excès de 5%. Bien que cette limite soit acceptable pour les marges d'erreur d'expérience sur les animaux, nous préférons pratiquer la réaction du biuret après précipitation des protéines.

b/ Mode opératoire :

Dans un tube à hémolyse de 18/12/13 mm, on met 1 ml d'extrait protéique (1) plus 1 ml d'eau distillée + 0,1 ml

(1) provenant de l'extraction jusqu'à épuisement par écrasement entre agitateur-piston et tube à hémolyse avec 3 fois 1,5 ml d'eau distillée et addition en quantité suffisante pour 5 ml.

de CH_3COOH à 1°/oo + 0,2 ml de solution saturée de ClNa (1 g + 2,8 g d'eau. On plonge le tube 15 minutes dans un bain-marie bouillant pour précipiter les protéines qui sont collectées dans le culot par une centrifugation à 5.000 tours/minute, pendant 5 minutes. On décante et l'on maintient le tube renversé sur du papier filtre pour bien l'égoutter. On dissout le culot de protéines par 1 ml de soude caustique à 12 %, puis la solution alcaline est additionnée de 1 ml de sulfate de cuivre 5 H_2O à 0,15 g %.

On laisse au repos 30 minutes. Une coloration violette se développe. La lecture s'effectue à 540 millimicrons au spectrophotomètre. Elle est faite par rapport à un témoin constitué par le mélange de 1 ml de soude caustique à 12 % + 1 ml de sulfate de cuivre 5 H_2O à 0,15 g %.

c/ Courbe étalon : Fig. VIII.

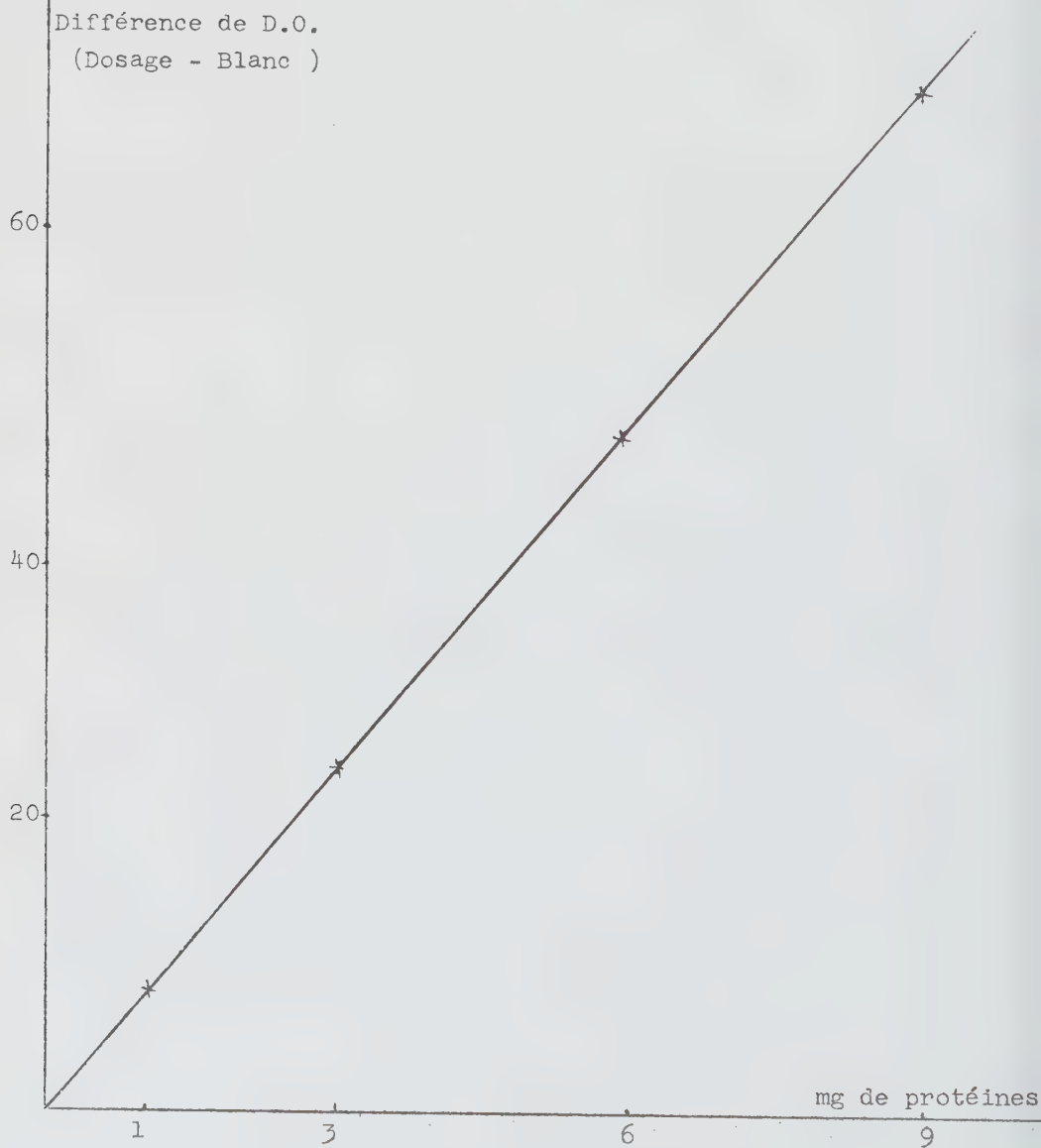
La courbe étalon est obtenue avec le sérum artificiel "Probiotrol" (Ets Biotrol des Laboratoires BIO-DUBERNARD, 3 rue de Béarn, Paris 3°) dont la teneur exacte en protides est indiquée par le fabricant, en général 90 g °/oo. On réalise les dilutions correspondantes à 10, 30, 60, 90 g °/oo en diluant la solution mère au 9è, au tiers, au 2/3, on en fait une gamme de 1, 3, 6, 9 mg/0,1 ml.

On ajoute dans chaque tube 0,9 ml de soude 12 % + 1 ml de sulfate de cuivre 5 H_2O à 0,15 g °/oo.

Fig. 8

DOSAGE DES PROTEINES INTRACELLULAIRES RENALES

Etalonnage sur le Spectral Junior des Ets Jouan, Cuve
10 mm, à 540 m μ



CHAPITRE IX

MICROTECHNIQUES DE PRECIPITATION EN GELOSE

Il importe de vérifier s'il apparaît chez la souris en HRC des protéines nouvelles, en premier lieu dans le compartiment intracellulaire rénal, en 2ème lieu dans le compartiment sanguin.

Pour faire ces détections, nous nous adressons aux techniques immunologiques de précipitation en gélose à l'aide des immuns-sérums spécifiques obtenus à partir des antigènes décrits ci-après :

a/ Préparation des antigènes (SH) :

Le premier antigène est du sérum de souris noires isologues à celles en expérimentation de souche C57 RCH, en HRC depuis 1 mois. Ce sérum est obtenu par décapitation de souris et récolte du sang en tube microtube de 1 ml.

Le 2ème antigène est constitué par des protéines intracellulaires rénales (RH) des mêmes souris, en HRC depuis 1 mois, préparées comme suit :

Les reins en HRC sont rassemblés grossièrement divisés et lavés 3 fois à l'eau distillée jusqu'à épuisement des protéines sériques, sont enfin écrasés dans un tube à hémolyse avec du sable de Fontainebleau avec un agitateur-pilon.

Pour 1 g de tissu rénal, on fait l'extraction avec 3 fois 1 ml d'eau distillée. On centrifuge 3 fois et récolte

les surnageants avec un micro-compte-gouttes à pointe en acier inoxydable (a). On concentre l'extractif par dialyse contre une solution aqueuse à 20 % de PVP (polyvinylpyrrolidone), dialyse suivie de dosage de protéines par la méthode du biuret et ajustage du taux protéique à 50 g °/oo avec de l'eau distillée.

Le 3ème antigène (SN) est du sérum des souris de même souche servant de témoin "sérum normal", il est obtenu de la même manière que le 1er antigène.

Le 4ème antigène (RN) est constitué par des protéines intra-cellulaires rénales de souris de même souche, servant de témoin "rein normal"; il est obtenu de la même manière que le 2ème antigène.

b/ Préparation des immun-sérums :

Les antigènes, titrés en protéines par la méthode de dosage déjà mentionnée au chapitre précédent servent à la préparation des immun-sérums spécifiques suivants :

Anti-SH	Anti-SN
Anti-RH	Anti-RN

Chaque immunisation a été faite, selon une variante de la technique de FREUND sur 4 lapins de 2 kg environ, avec l'adjuvant lipidique de composition suivante :

Huile de paraffine	1 ml
Aquafor fondu	0,1 ml
Bacilles tuberculeux tués (poudre de culture)	0,01 g

(a) Fournisseur : Institut biologique de Médecine Collective, 56 avenue Mathurin Moreau, Paris 19°.

Une première série d'injections intramusculaires (IM) fut faite sous l'épaule, une deuxième série en intraveineuse (IV), selon ce rythme, à ces doses pour un lapin :

1ère semaine 1 IM de 3 mg de protéines + 1ml d'adjuvant.

2ème semaine 1 IM de 6 mg de protéines + 1 ml d'adjuvant

3ème semaine repos

4ème semaine repos

5ème semaine 1 IM de 12 mg de protéines + 1 ml d'adjuvant

6ème semaine repos

7ème semaine 3 IV de 3 mg de protéines

8ème semaine 3 IV de 6 mg de protéines

9ème semaine 3 IV de 12 mg de protéines

Le prélèvement des immun-sérums fut effectué le 3ème jour après la dernière injection.

c/ Analyse immuno-électrophorétique :

1 - Principe :

Le principe en est maintenant bien connu : après l'électrophorèse en gélose, on laisse diffuser l'immun-sérum dans une gouttière parallèle à l'axe de la migration électrophorétique. On retrouve ainsi le principe de la technique d'Ouchterlony où les antigènes se trouveraient alignés sur un axe (axe de migration), parallèle au réservoir d'anticorps, ceux-ci étant mélangés et répartis tout au long de la fente. Chaque antigène, en diffusant radialement autour de son origine, va rencontrer son anticorps homologue qui diffuse latéralement. Il se forme ainsi une série de précipités dont

les arcs paraboliques (dans le cas idéal) se comportent comme les systèmes indépendants dans les boîtes d'Ouchterlony : les lignes vont se couper (Fig. 9).

L'immuno-électrophorèse est la méthode de choix pour le contrôle des motifs d'antigénicité de la protéine. En une seule fois, elle permet une double identification des protéines; puisqu'elle fournit les renseignements relatifs à la mobilité électrophorétique et une identification des fractions antigéniques par précipitation avec des immun - sérums.

Ce principe a été décrit en 1953 et en 1954 par GRABAR. Les détails techniques de la microméthode ont été précisés en 1958 par COURCON. Entre temps, une microméthode a été proposée par SCHEIDEGGER (1957).

Nous avons travaillé sur une ultra-microméthode personnelle ne nécessitant pas l'emploi d'un tampon circulant, donc plus commode, permettent de gagner considérablement de temps (12 heures contre 7 jours pour un cycle complet de travail), ce qui évite la multiplication microbienne et donne plus de finesse dans la lecture des résultats. L'appareillage a été fabriqué par nous-mêmes.

2 - Appareillage :

Bac d'électrophorèse : c'est un récipient en matière plastique se trouvent dans le commerce. Les deux parois longitudinales sont percées d'un trou de 8 mm de diamètre, deux fiches femelle d'utilisation courante en radioélectricité sont mises en place, enserrant deux électrodes en platine de section 5/10 mm, de longueur 25 mm (Fig. 10). Les cases A et B reçoivent chacune 250 ml de tampon au véronal.

Le bac est recouvert d'une plaque de verre double 22 x 36cm accompagnée d'une feuille en matière plastique noire de mêmes dimensions.

Redresseur : Le courant continu s'obtient par la lampe électronique EZ 80, susceptible de débiter 80 mA sous 150 v. Contrairement aux redresseurs secs, cette lampe donne un courant continu idéal, ne possédant pas les inconvénients du courant inverse (Fig. 10 b). Ce redresseur doit être accompagné d'un voltmètre pour la zone 40 v. ou de tout appareil de mesure équivalent.

Guide perforateur : Trois blocs de Lucoflex (matière plastique rigide) comportent chacun un trou cylindrique dans le sens vertical. Ils enserrrent deux lames de rasoirs et sont serrés par deux traverses de boulons (Fig. 10 c). On joint à cet appareil une aiguille à injection de longueur 50 mm, diamètre extérieur 8/10 mm, meulée coupante suivant sa section droite, branchée sur trompe à vide.

Trois boîtes en matière plastique : Ces boîtes peuvent s'acquérir aisément (Fig. 10 d). La première sert de chambre humide : ses deux petites parois portent deux chevalets en verre, les deux autres et la surface intérieure du couvercle sont tapissées de papier Arche 302. Elle contient 50 ml d'eau merthiolatée. La deuxième sert de boîte de coloration, contenant 50 ml d'une solution d'amido-schwartz. La troisième sert de boîte à décoloration, contenant 50 ml de solvant acétique. Sur le fond de ces dernières, repose un chevalet en U. L'installation complète est représentée dans la Fig. 11.

A cet appareillage principal s'ajoutent les accessoires suivants :

Boîtier éclairage : On utilise un boîtier genre tireur de photographies, présentant un seul endroit ajouré de 20 x 70 mm; il est destiné au travail à contre-jour.

Lampe à infra-rouges : C'est une lampe Philips 110 Volts, 250 W, suspendue à 25 cm de la paillasse, sur un support auquel est fixé une arrivée d'air comprimé situé à 5 cm de la paillasse.

Lames porte-objets : Ce sont des lames usuelles de microscopie, de bonne qualité de dimensions de 26 x 76 mm; elles seront soigneusement dégraissées à l'alcool-éther.

Papiers : De préférence, nous utilisons le papier Arche n° 302, de dimensions de 90 x 140 mm pour le séchage et l'emploi en chambre humide. Par contre, on sera du papier n° 304 de dimensions 20 x 130 mm, plié selon le sens de la longueur au niveau du tiers de la largeur qui servira de pont conducteur entre la gélose et le tampon véronal.

REACTIFS :

Tampon véronal : Sa formule est la suivante : véronal sodique 15,8 g, eau distillée neutralisée 770 g, acide chlorhydrique 0,1 N 230 g, mercuri-éthyl-thio-salicylate de sodium (Merseptyl) 0,1 g. Ce tampon a pour caractéristiques : pH 8,2, force ionique 0,1.

Gélose tamponnée : Elle est obtenue avec de la gélose en poudre, d'excellente qualité ou purifiée, 1 g, eau distillée neutralisée 50 g, tampon véronal 50 g. Faire bouillir pendant 3 minutes environ en agitant. Coulez dans des tubes à essai Pyrex, 12 ml environ dans chacun. Bouchez au caoutchouc. Cette gélose a un pH de 8,2. Elle a une concentration ionique moitié moindre que celle du tampon véronal.

Gélose salée : Sa composition est la suivante : gélose en poudre, d'excellente qualité ou purifiée 1 g, solution aqueuse de ClNa à 0,9 ‰ 100 g, solution aqueuse de Merseptyl à 10 ‰ II gouttes.

Gélose sans sel : Gélose en poudre d'excellente qualité ou purifiée 2 g, eau distillée neutralisée 100 g, solution aqueuse de Merseptyl à 10 ‰ II gouttes.

Eau merthiolatée : Merseptyl 0,1 g, eau distillée 1000g.

Solvant acétique : Méthanol 900 ml, acide acétique 100 ml.

Solution d'amidoschwartz : Amidoschwartz 1 g, solvant acétique 1000 ml.

Fixateur : Acide acétique 1, alcool à 95° 70, eau 30.

3 - Techniques

Avant de pratiquer l'immuno-électrophorèse, nous employons la technique de Micro-Ouchterlony pour déterminer le rapport optimum entre antigène et immun -sérum de la zone d'équivalence (Grasset 1956, Hartmann 1957). On sait en effet que la réaction de précipitation est un phénomène de zones; l'addition à une quantité fixe d'anticorps des quantités décroissantes d'antigènes donne lieu à la formation d'un précipité dont l'importance passe par un maximum correspondant, le plus souvent, à une neutralisation complète de l'antigène; la réaction immuno-électrophorétique a d'autant plus de valeur significative que nous nous plaçons dans cette zone d'équivalence.

a/ Technique de Micro-Ouchterlony

Les antigènes et les anticorps, étant contenus chacun dans des trous creusés dans le gel, diffusent l'un vers l'autre et forment un précipité linéaire à l'endroit où l'antigène et l'anticorps se trouvent en quantité convenable.

Lorsqu'on dispose plusieurs réservoirs à antigène autour d'un réservoir à anticorps et qu'on y place divers antigènes autour de l'immunsérum correspondant, on peut observer plusieurs types de réaction. Si les deux antigènes voisins sont identiques entre eux : le trait de précipitation est continu. Si les deux antigènes voisins sont différents : les traits se croisent. Deux antigènes voisins partiellement identiques vont donner une ligne bifurquée.

La technique consiste à couler la gélose salée sur des lames porte-objets de 26 x 76 mm, dégraissées au préalable à l'alcool-éther. Après refroidissement, on découpe la gélose selon l'image du guide perforateur avec une aiguille de 30 mm de long et de diamètre extérieur 18/10 mm (Fig. 10e) : 1 trou central, 6 trous périphériques. Chaque lame permet de faire deux expériences. Le trou central reçoit l'immun-sérum et les trous périphériques l'antigène à plusieurs concentrations, d'ordinaire pur, dilué au 1/2, 1/4, 1/6, 1/8, 1/10. Les lames seront placées 6 heures dans la chambre humide. On lave, sèche, colore comme pour l'immuno-électrophorèse (voir plus loin).

b/ Technique d'immuno-électrophorèse

En examinant l'image fournie par la technique de Micro-Ouchterlony, nous pouvons fixer notre choix sur le rapport optimum antigène/anticorps pour lequel la précipi-

tation est maximale, pour exécuter l'épreuve d'immuno-électrophorèse, dont voici les principes de manipulations :

1/ Coulée de la gélose tamponnée : On liquéfie la gélose tamponnée et l'on coule 2 ml sur chaque lame porte-objet avec une pipette chaude. Le gel de gélose forme un ménisque sur les bords de la lame; son épaisseur est d'un mm environ. Il convient de travailler sur la plaque de verre placée horizontalement sur la feuille de plastique noir.

2/ Découpe des réservoirs : Après refroidissement (environ 5 minutes), découper la gélose avec le guide perforateur et son aiguille à évider branchée sur trompe à vide. Les trois trous sont destinés à recevoir des antigènes, les deux fentes à recevoir des immun -sérum.

3/ Dépôts de l'antigène : Le dépôt s'effectue jusqu'à effleurement de la surface du gel, grâce à une pipette de Pasteur étirée successivement deux fois pour supprimer tout écoulement par gravité. En plongeant celle-ci dans l'antigène de dilution choisie par la Micro-Ouchterlony, l'antigène y monte par capillarité. Par simples attouchements, l'antigène descend dans les réservoirs.

4/ Migration électrophorétique : Chaque bac d'électrophorèse peut être chargé de 5 lames à 3 trous, ce qui permet une étude de 15 antigènes ou d'un même antigène à plusieurs concentrations. Les cinq lames sont disposées côte à côte dans le bac d'électrophorèse; on met en place les ponts conducteurs mouillés au tampon véronal. Le bac d'électrophorèse est branché sur la sortie du redresseur, l'anode étant du côté du réservoir d'antigène. La migration s'effectue sans couvercle - (plaque de verre) - pendant 40 minutes à 40 volts, à la lisière des ponts conducteurs en gélose.

5/ Précipitation immunologique : Après migration, on charge d'immun-sérums, à la dilution choisie par la technique de Micro-Ouchterlony, les fentes découpées sur la gélose en opérant comme en (3). Mettre les lames en chambre humide. Neuf heures suffisent pour cette précipitation immunologique.

6/ Lavage : On trempe les lames durant 1 heure dans la solution de ClNa 9 ‰ et 3 fois 5 minutes dans l'eau distillée. Pour ces opérations, le couvercle de la chambre humide sert avantageusement de récipient.

7/ Séchage : Les lames sont placées entre deux morceaux de papier Arche 302, celui du dessus en contact avec la gélose étant légèrement inhibé d'eau distillée. Le tout repose sur la plaque de verre et à 25 cm de la lampe à infra-rouge, ventilé par une arrivée d'air. Le gel de gélose est réduit à l'état de film accolé par dessiccation. Un léger flottement du pouce sur la lame enlève toute trace de papier. Un jet d'eau distillée achève le nettoyage du film de gélose (URIEL 1955).

8/ Coloration : Les lames sont alors trempées dans la solution d'Amidoschwartz (environ 5 minutes), lavées sous un faible jet d'eau distillée, puis placées dans le solvant acétique quelques minutes pour décolorer le fond de gélose. On lave finalement à l'eau distillée. Seules les lignes de précipitation restent colorées en bleu. D'autres méthodes de coloration peuvent d'ailleurs être appliquées (GRABAR, 1956).

Notes : concernant la cuve de migration électrophorétique et de son alimentation en courant continu :

Les appareils représentés dans les Fig. 10 a et 10 b, déjà petits, peuvent être encore réduits. Le schéma de l'alimentation électrique en courant continu représenté par la Fig. 12 b comporte principalement 2 transistors 14J2, ce qui explique la réduction de son volume. Cet appareil peut fournir un courant continu bien redressé de 50 mA sous 100 volts, ce qui suffit largement pour alimenter plus de 4 lames d'électrophorèse en gélose.

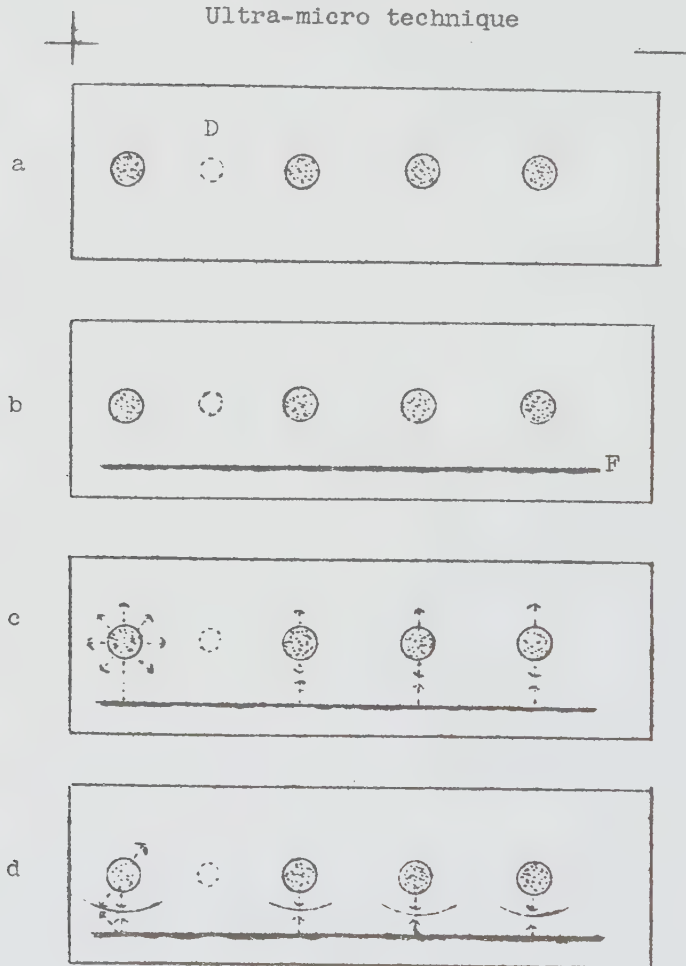
La cuve de migration électrophorétique provient d'un petit boîtier en plastique, cloisonné en 4 (vendu dans les bazars comme articles de bureau ou de caisse), avec son couvercle. Utilisé selon la disposition de la Fig. 13a, c'est-à-dire les lames placées parallèlement aux côtés AB, il en contient exactement 4.. Dans ce cas, on utilise seulement 50 ml de tampon véronal pour chaque cuve, soit une réduction au 5ème, par rapport à la cuve de la Fig. 10 a. Utilisé selon la disposition de la Fig. 13 b, c'est-à-dire les lames placées parallèlement à la diagonale AC, il permet la migration de 2 lames à la fois. Dans ce cas, on utilise 25 ml de tampon véronal seulement pour chaque cuve, soit une réduction au 10ème par rapport à la cuve de la Fig. 10 a, ce qui est appréciable vu le coût du véronal solide.

La cuve miniature et son alimentation en transistors occupent seulement un volume plus petit que celui d'un cube de 12 cm de côté. Le temps de migration est toujours de 40 minutes pour l'analyse immuno-électrophorétique.

Il importe de ne pas tenter d'effectuer soi-même le cloisonnement de la cuve par des collages, car toutes les colles subissent l'électrolyse pendant la migration électrophorétique, et cela change les constances de travail. Le petit boîtier en plastique que nous avons employé est moulé d'une seule pièce.

Fig. 9

PRINCIPE D'IMMUNO-ELECTROPHORESE
Ultra-micro technique



- a - L'électrophorèse a séparé les fractions du mélange d'antigènes déposé en D.
- b - On ajoute l'immun-sérum anti-antigène dans la fente F.
- c - Le mélange d'antigènes et l'immun-sérum diffusent dans tous les sens.
- d - A la rencontre des lignes de diffusion correspondant aux zones d'équivalence, il y a précipitation spécifique entre l'antigène et son anticorps.

Fig. 10

SCHEMAS DU MATERIEL POUR L'EXECUTION
DE LA MICRO-OUCHTERLONY ET DE L'ULTRAMICRO-IMMUNOELECTROPHORESE

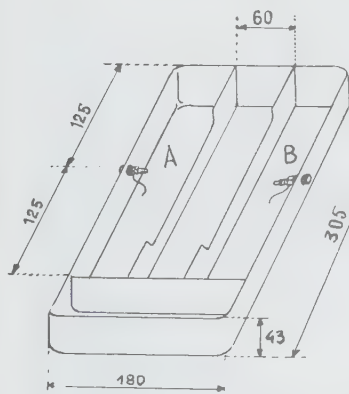
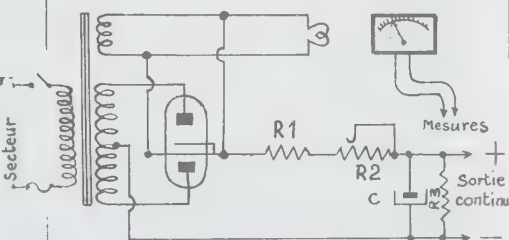


fig. a



Tube : EZ80.
R1 : 160 Ω 5W.
R2 : 2500 Ω 25W
R3 : 10 k Ω 1W
C : 16 μ F 350 V
(Schéma Huynh - Thanh)

fig. b

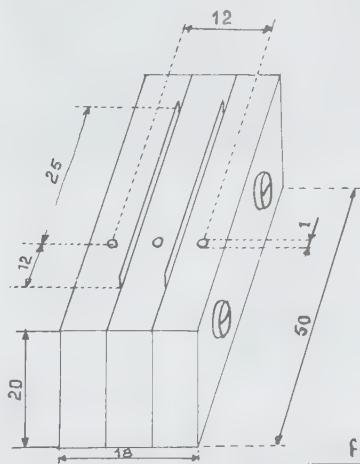


fig. c

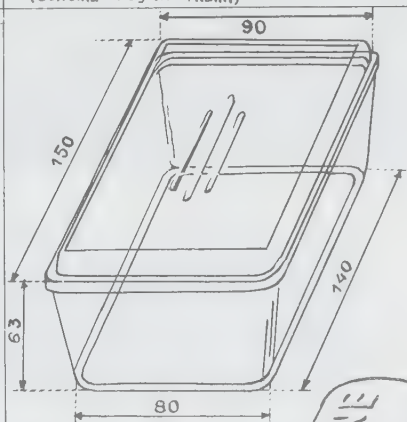


fig. d

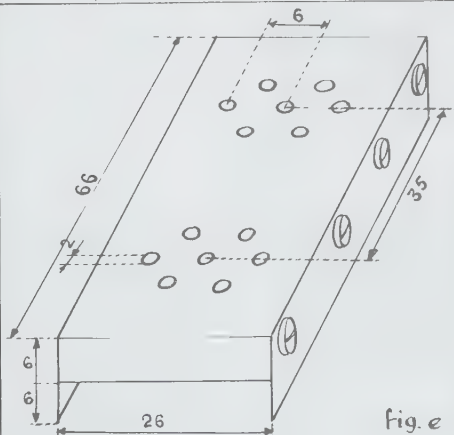


fig. e

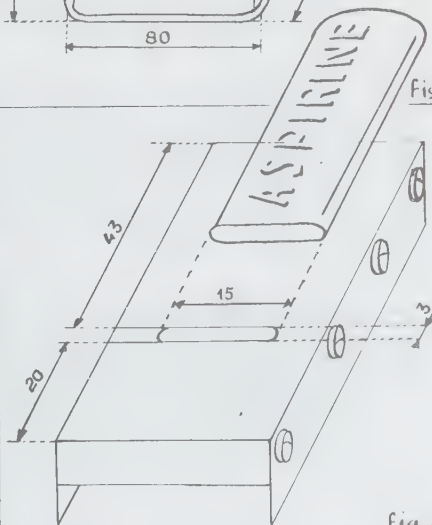


fig. f

INSTALLATION DE L'APPAREILLAGE DE LA TECHNIQUE
DE LA MICRO-OUCHTERLONY ET DE L'ULTRAMICRO-IMMUNOELECTROPHORESE



Fig. a Appareillage

Fig. b



un test d'immuno-
électrophorèse

Fig. c



un test de micro-
ouchterlony

Fig. d



un test de micro-
électrophorèse exécuté
avec son guide perforateur (Fig. 6), et le
matériel commun à
toute l'installation

Fig. 12
Cuve d'électrophorèse réduite
et son alimentation transistorisée

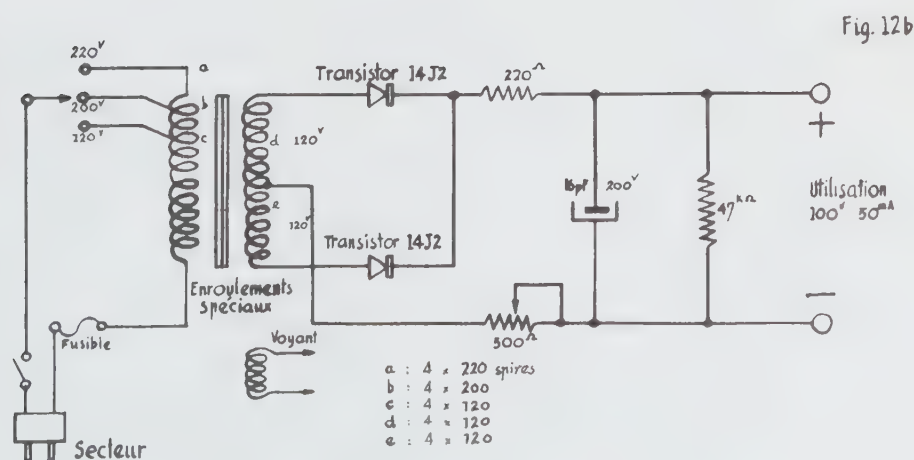
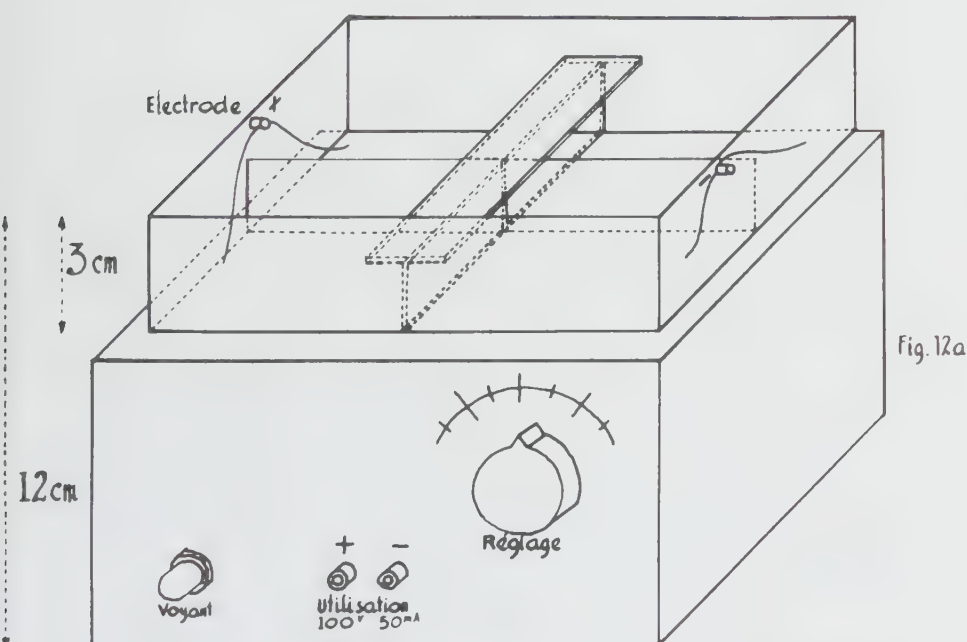
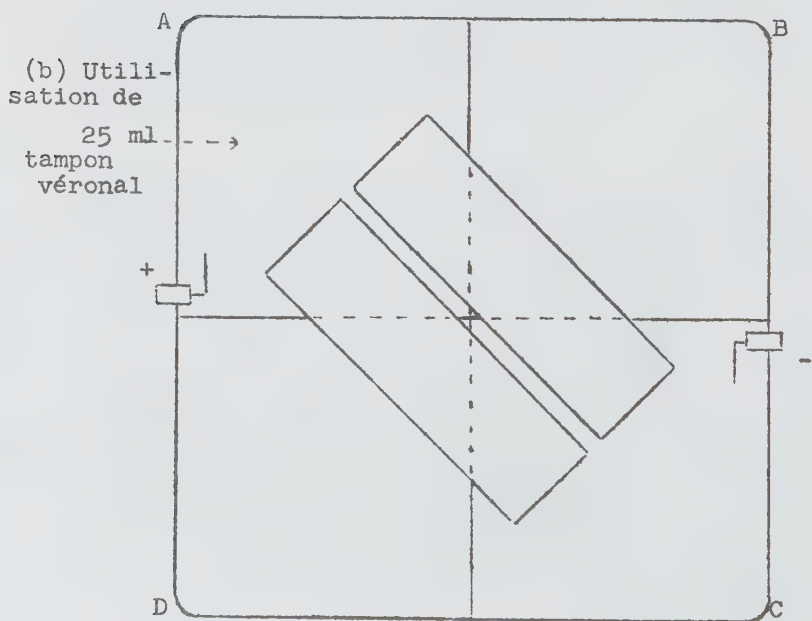
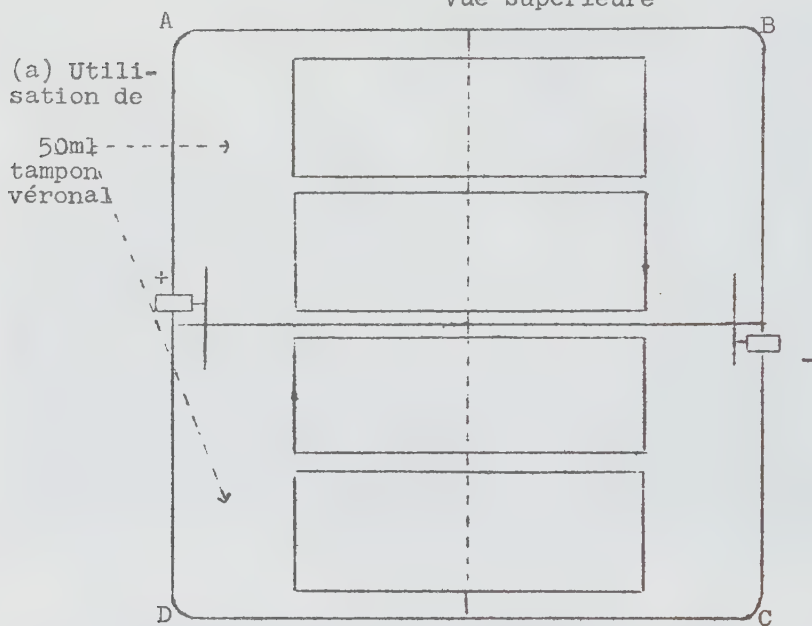


Fig. 13

CUVE D'ELECTROPHORESE REDUITE

Vue supérieure



CHAPITRE X

TECHNIQUE DE LIGATURE DE L'URETERE ET DU PEDICULE RENAL

a/ Ligature totale de l'uretère du rein gauche.

Dans la 3ème partie, les résultats expérimentaux de l'HRC montrent que ce phénomène est en corrélation avec la variation du métabolisme cérébral, suite à la section du paquet vasculo-nerveux du pédicule rénal. Une question se présente ainsi à l'esprit : cette corrélation vient-elle de la néphrectomie ou de l'hypertrophie ?

Pour apporter une réponse à cette question, nous sommes amenés à pratiquer une ligature de l'uretère du rein gauche pour supprimer la fonction rénale gauche, ce qui correspond à une néphrectomie virtuelle. Et nous portons nos observations sur le rein droit comme de règle depuis le début de ce travail. (*)

Pour faire la ligature de l'uretère, on ouvre la souris par le dos, du côté gauche, selon la technique décrite dans la 1ère partie, chapitre I. L'uretère du rein gauche apparaît comme un capillaire blanc nacré, d'un millimètre de diamètre, tendu et tiré vers le bas, ainsi que le montre la Fig. 14.

On le ligature avec du fil fin, par un noeuf plat et referme l'ouverture dorsale. L'uretère est très petit

(*) = La ligature totale du pédicule rénal provoque une grande mortalité des animaux à la suite de la lyse du rein non vascularisé. Elle provoque une HRC de l'autre rein d'une manière peu importante, les résultats très variables sont peu interprétables.

mais bien individualisé et la ligature ne pose donc aucun problème.

b/ Ligature partielle du pédicule rénal du rein droit après néphrectomie du rein gauche.

Pour rechercher s'il existe une corrélation entre l'HRC et la diminution du débit sanguin du rein en voie d'hypertrophie compensatrice, nous sommes amenés à faire des ligatures du pédicule rénal du rein droit.

Comme c'est une opération difficile, nous commençons par la faire, et, en cas de réussite, nous pratiquons ensuite la néphrectomie du rein gauche, opération beaucoup plus facile. Ainsi évitons-nous le risque de perdre un animal déjà néphrectomisé.

Une vue ventrale de la région lombaire laissant apercevoir le décalage des deux reins en 2 étages, permet de juger s'il serait possible de diminuer le débit du rein gauche qui est plus bas, par une ligature de l'aorte abdominale en A (Fig. 15). Cela est loins d'être idéal, car, si nous diminuons le débit du rein gauche, nous diminuons par la même occasion toute l'irrigation de la partie inférieure du corps.

D'un autre côté, pour ne pas changer le paramètre d'étude (celle-ci était toujours faite sur le rein droit), il faut réaliser la ligature du pédicule rénal du rein droit, c'est-à-dire la ligature au niveau B (Fig. 15) selon la technique de GOLDBLATT (1949).

L'animal est anesthésié au Rectanol d'une manière assez profonde, car l'opération durera environ 30 minutes : 0,9 ml d'une solution à 2,5 % par 100 g d'animal. On l'installe sur une plaque de verre de 80 x 80 mm et on le fixe avec du papier adhésif.

Quand le rein est extériorisé, on oriente l'animal placé sur le ventre, la tête vers l'opérateur, de manière que la main gauche puisse saisir commodément le rein droit, laissant la main droite libre pour opérer (ceci pour un droitier).

Cette opération est délicate, car le pédicule rénal est petit, noyé dans de l'aponévrose et c'est par un éclaircissement à contre-jour venant du côté gauche que l'on discernera bien ce pédicule rénal grâce à sa couleur rouge. En bas se trouve l'uretère blanc nacré. Plus haut, la veine rénale gorgée de sang et plus haut encore, et en avant : l'artère rénale, rattachée à sa veine. Il ne semble pas que la séparation avec la veine rénale soit possible chez la souris, vu la quantité d'aponévrose à enlever, la petitesse des vaisseaux et surtout la fragilité de la veine rénale.

On dissèque les aponévroses du pédicule rénal par un bistouri fabriqué avec un mandrin en acier de 3/10 mm, soudé à une micro-pipette Pasteur.

On passe ensuite autour du pédicule, ainsi dénudé, un fil de platine de 1/10 mm de diamètre et l'on fait un noeud simple tout autour.

On passe ensuite dans le noeud, parallèlement au

pédicule un fil de platine de même diamètre (Fig. 16).

A ce moment, nous continuons le travail sous la lampe d'un microscope binoculaire Zeiss Junior, à éclairage par le bas et par le haut, l'animal placé sur la plaque de verre étant orientable par un charriot, le grossissement total de l'appareil est de 20 fois.

Le pédicule apparaît gros comme :

$$\frac{2}{10} \text{ mm} \times 20 = 4 \text{ mm}$$

On serre le noeud simple au maximum, tire délicatement l'autre fil de platine. Le pédicule d'abord serré par le noeud peut se distendre, et on devrait constater un étranglement et un débit sanguin plus réduit au microscope.

Il n'est pas utile de faire un double noeud, car le fil de platine de 1/10 mm convient pour ce travail. Il est relativement fort pour le calibre du pédicule rénal et il n'est pas concevable qu'il puisse être distendu par le faible débit sanguin. D'un autre côté, il est assez souple pour ne pas traumatiser. Un essai de piqure de capillaires avec du fil de platine de même diamètre montre sous la loupe que c'est le fil qui cède (a).

La ligature partielle terminée, on coupe le fil de

(a) A ce diamètre, le platine présente heureusement une malléabilité apte pour notre travail de ligature, sans être pour cela ductile sous la pression artérielle; le noeud étant intact au 3ème jour après l'opération.

platine presque à ras du noeud, ferme le plan musculaire lombaire droit, fait une autre incision lombaire du côté gauche et pratique la néphrectomie du rein gauche; après quoi, on referme les ouvertures.

C'est une opération délicate à exécuter, mais la chose est du domaine des possibilités, du moment que l'on peut opérer sur des régions très précises, des oeufs de Pleurodèles au stade Blastula, ne mesurant pas plus d'un millimètre de diamètre.

Fig. 14

LIGATURE TOTALE DE L'URETERE

du rein gauche de souris

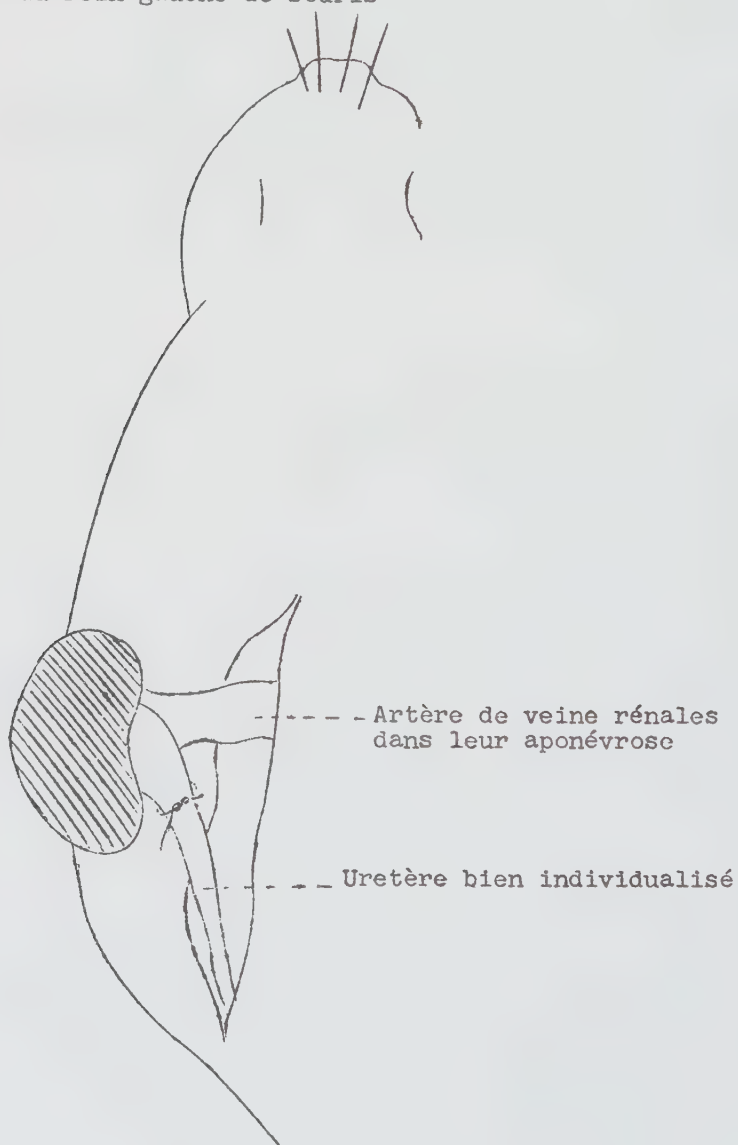


Fig. 15
IRRIGATION RENALE CHEZ LA SOURIS

Vue ventrale

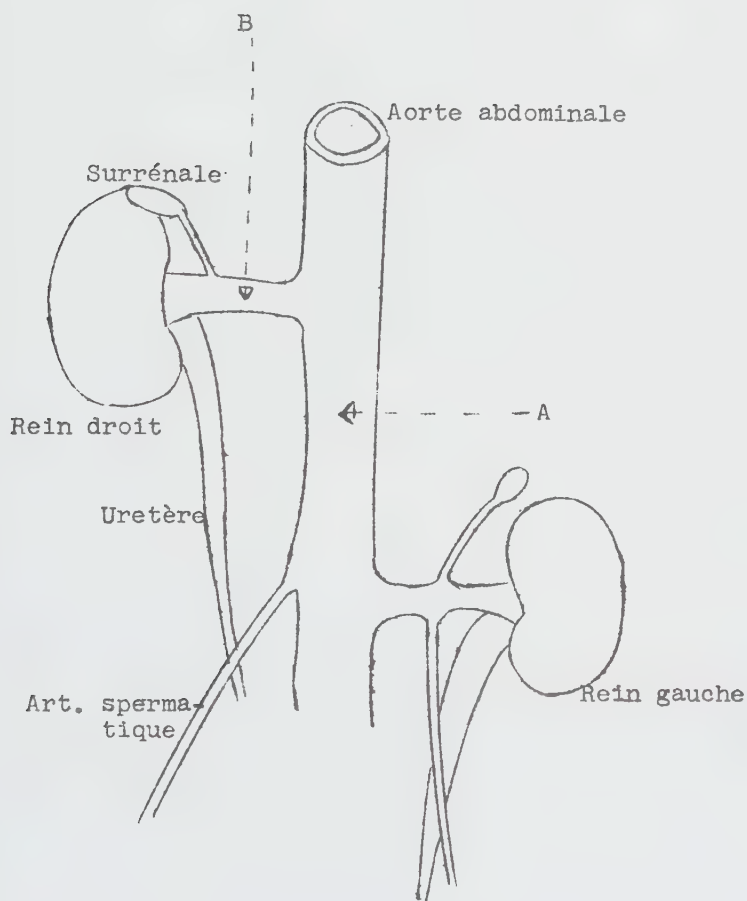
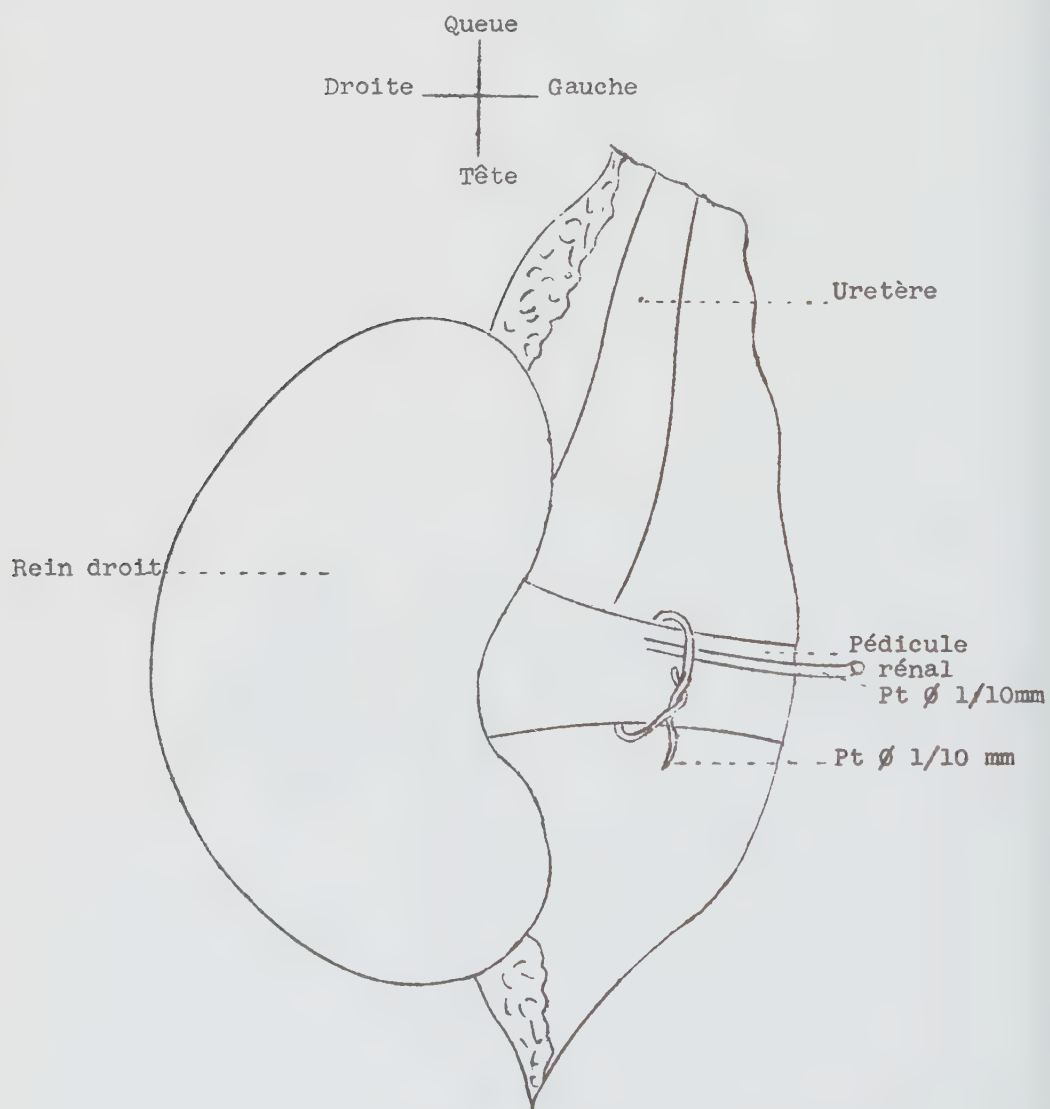


Fig. 16

LIGATURE PARTIELLE DU PEDICULE RENAL
DU REIN DROIT, CHEZ LA SOURIS



VUE DORSALE

2ème PARTIE

R E S U L T A T S E X P E R I M E N T A U X

CHAPITRE I

ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

Les résultats de nos expériences ont été résumés dans une série de tableaux numérotés de 1 à 16.

Nous allons examiner successivement les données qui se dégagent des études d'HRC correspondant à ces stades : du 15^e au 60^e jour, après mononéphrectomie, du 1^{er} au 15^e jour, puis très spécialement du 1^{er} au 3^e jour, en insistant sur les paramètres de travail qu'il faut absolument observer, notamment l'heure de néphrectomie, pour obtenir la reproductibilité des résultats, au cours de cette période : 1^{er} au 3^e jour.

Nous envisagerons ensuite les modifications de l'eau, de l'ARN, de l'ADN pendant ces trois premiers jours, ce qui représente en quelque sorte la phase initiale de l'HRC, précédée d'ailleurs par une augmentation de glycogène rénal.

Nous étudions ensuite l'incorporation de l'acide glutamique radioactif C-14 dans les protéines cérébrales le 3^e jour, après néphrectomie, avec et sans action d'un mobilisateur des monoamines du système nerveux central; à cet effet, nous avons employé de la réserpine en injection péritonéale.

A ces résultats, desquels se dégage une corrélation entre l'HRC et le métabolisme cérébral, s'ajoutent ceux provenant des dosages de protéines intracellulaires du rein hypertrophié au 3^e jour. Il y a augmentation quantitative de ces protéines.

Il apparaît en outre au moins 2 fractions protéiques intracellulaires rénales nouvelles, révélées par les épreuves de précipitation en gélose, selon la microtechnique dérivée de celle d'Ouchterlony (1^{ère} partie, chapitre IX) et analysée par l'immuno-électrophorèse avec précipitation directe en présence d'un anti-sérum spécifique ou avec précipitation croisée en présence d'un anti-sérum des protéines intracellulaires de rein normal.

Nous avons cherché s'il est apparu dans le sang circulant des protéines sériques nouvelles qui pourraient être responsables de l'HRC, mais ces recherches sont demeurées négatives.

Nous avons finalement fait des ligatures de l'uretère du rein gauche pour supprimer son fonctionnement, et, à notre grande surprise, nous n'avons pas observé d'HRC du rein droit, du moins du 1^{er} au 3^e jour, ce qui laisserait sous-entendre que ce n'est pas la suppression du fonctionnement rénal gauche qui est à l'origine de l'HRC du rein droit.

Pour qu'il y ait hypertrophie du rein, il faut qu'il y ait section du paquet vasculo-nerveux de l'autre.

Pour terminer les recherches, nous avons fait des

ligatures partielles du rein en HRC, selon la technique de GOLDBLATT (1949), dans le but de diminuer l'apport des matériaux sériques nécessaires à l'HRC. La diminution du flux sanguin diminue la formation de protéines intra-cellulaires. La courbe d'ARN ne semble pas affectée pendant le premier jour, mais s'effondre à 1 jour 1/2. Par contre celle de l'ADN reste parallèlement à la courbe, témoin néphrectomisé.

Pour chaque série de chiffres, nous traçons la courbe d'après la moyenne, accompagnée de la valeur de son erreur standard calculée selon ces formules classiques :

$$\sigma = \sqrt{V}$$

$$V = \frac{\sum (x - m)^2}{N}$$

- L'écart type σ étant la racine carrée de la variance.
- La variance V étant la moyenne des carrés des écarts.

x = chiffres fournis par l'expérience

N = le nombre des mesures x

m = la moyenne arithmétique des x

Σ = la somme ...

Comme nos expériences nous donnent toujours de petits nombres de chiffres, nous apprécions la signification des différences entre deux moyennes en utilisant le test de Student qui définit l'intervalle de confiance selon la formule :

$$m - t\sigma < m < m + t\sigma$$

Les tables donnent les probabilités P extérieures à l'intervalle $\pm t$.

Par exemple, pour $t = 2$, $P = 0,05$, soit 5%, d'où l'intervalle de confiance 95 %.

Examinons, d'une part, à titre d'exemple, le Tableau n° 6 (reporté dans les Fig. 21 et 44) :

Moyenne des variances = 3

$$\sigma = \sqrt{3} = 1,7$$

$$2\sigma = 3,4$$

Chaque détermination est connue à $\pm 3,4$ ($P = 0,05$, c'est-à-dire 95 % de confiance).

$RHd/RHg = H$ est connue à $\pm (3,4/600 + 3,4/600)$.

L'erreur pour $RLd/RLg = L$ sera de même égale à $\pm (3,4/600 + 3,4/600)$.

En divisant H/L , l'erreur devient $= 3,4/600 \times 4 = 13,6/600$, soit 0,02.

En faisant la différence $(H/L)_t - (H/L)_{0,5}$, l'erreur absolue se cumule et devient $0,02 + 0,02 = \underline{0,04}$ pour dHC.

D'autre part, le report des résultats bruts du Tableau n° 6 dans la Fig. 44 et ceux des Tableaux n° 6, 14 dans la Fig. 45, tenant compte du sens des erreurs, montre bien une erreur de $\pm \underline{0,01}$ pour dHC.

La faible variance de nos chiffres s'explique du fait que nous nous sommes basés sur une constante génétique qui est une donnée biométrique la plus sûre : le rapport ADN du rein droit/ ADN du rein gauche d'un animal génétiquement déterminé. Signalons que les récents travaux de Loiseleur (1963) sur l'ADN de la peau sont connus aux erreurs de $\pm 4\%$. L'auteur est tributaire dans ses études des pesées que nous écartons par principe.

CHAPITRE II

L'HRC du 15ème au 60è JOUR APRES MONONEPHRECTOMIE

Le marquage de l'ADN rénal est fait par la Thymidine radio-active tritiée selon la technique décrite (1ère partie, chapitre II). L'extraction s'effectue selon les modalités exposées (1ère partie, chapitre III).

Le dosage de l'ADN se fait sur la partie éliquote de 1 ml/5, le résultat final est redressé par le coefficient x 5.

Le comptage de l'incorporation de thymidine tritiée se faisant sur 3 ml/5 est redressé par le coefficient 5/3.

On exprime finalement le nombre d'impulsions radioactives comptables pour 100 gammas d'ADN rénal.

Selon le marquage, décrit précédemment dans la 1ère partie, chaque comptage radioactif, après HC*, représente la quantité d'incorporation à cet instant, c'est-à-dire le nombre de cellules nouvelles du moment, à une constante près.

- A l'instant t_1 , il y a y_1 mitoses dont (r_1) mitoses non liées à l'HRC qui sont des mitoses de renouvellement après mort cellulaire,

(*) = hypertrophie compensatrice.

des mitoses de croissance en fonction du temps,
des mitoses de traumatisme post-opératoire.

Posons : $(y_1) - (r_1) = (h_1)$

(y_1) s'obtient par comptage du rein en HC/100 gammas d'ADN.
 (r_1) s'obtient par comptage de l'activité du rein en lombotomie témoin ayant reçu le même marquage radioactif/100 gammas d'ADN; (H_1) représente donc la part réelle de mitoses d'HC du rein.

- A l'instant t_2 , il y a (y_2) mitoses dont (r_2) mitoses extra-HC

$$(y_2) - (r_2) = (dh_2)$$

(dh_2) représente les mitoses d'HC du rein à l'instant t_2 .

$$H_1 + dh_2 = \text{mitoses totales d'HC à l'instant } t_2.$$

Nous exprimons les résultats $H_n + dh (n + 1)$ par rapport à H_n , en fonction du temps.

Le rapport :

$$\frac{H_n + dh (n + 1)}{H_n}$$

représente donc l'incorporation relative de thymidine, c'est à-dire l'augmentation du pool d'ADN par rapport à sa valeur initiale d'incorporation de départ. En d'autre terme, le nombre de noyaux cellulaires est susceptible d'être comparé à tout instant avec le nombre initial.

Ces résultats récapitulés au Tableau 1, Fig. 17, mon-

trent une succession de phénomènes :

- l'Absence d'incorporation relative de Thymidine tritiée du 1er au 15è jour, après mononéphrectomie.
- Une incorporation irrégulière non reproductible, car plus ou moins marquée selon les sujets du 15è au 18è jour.
- 1er mode d'incorporation du 20è au 26è jour.
- deuxième mode d'incorporation du 30è au 34è jour.
- troisième mode d'incorporation du 42è au 60è jour.

Pour récapituler : l'HRC du rein est un phénomène trimodal visible entre le 16è et 60è jour, après mononéphrectomie par marquage à la Thymidine tritiée. La technique des indicateurs nucléaires ne permet pas d'étudier le phénomène avant le 15è jour. Du 15è jour au 18è jour, on ne peut pas noter le départ exact des mitoses de l'HRC.

L'HRC est un phénomène très variable ainsi que le reconnaissent tous les auteurs qui ont abordé son étude. Il est influencé par d'innombrables facteurs. Il nous paraît capital d'insister sur les paramètres dont l'observation rigoureuse est nécessaire à la reproductibilité des courbes, surtout si celles-ci sont le résultat d'études effectuées dans des espaces de temps plus courts.

Tableau n° 1 (reporté dans la Fig. 17)

Incorporation de thymidine tritiée dans le rein droit en hypertrophie compensatrice, enlèvement du rein gauche au temps zéro.

J	y	r	Hn + dh (n+1)	$\frac{Hn + dh (n + 1)}{Hn_0}$
15	83	23	Hn ₀ = 60	1
18	104	35	69	1,16
21	122	47	75	1,25
24	139	58	81	1,35
27	142	60	82	1,37
30	145	60	85	1,42
33	162	75	87	1,46
36	174	86	88	1,47
39	180	90	90	1,49
42	191	100	91	1,52
51	205	111	94	1,58
60	218	122	96	1,60

Légende :

J = Jours après enlèvement du rein gauche.

y = marquage total de toutes les mitoses (rein droit hypertrophié) coups/minute/100 gammas ADN mouvement propre déduit.

r = marquage des mitoses extra-hypertrophie rénale compensatrice (rein droit de l'animal lombotomisé) coups/minute/100 gammas ADN, mouvement propre déduit.

Hn + dh (n + 1) = (y - r) = marquage des mitoses correspondantes à l'hypertrophie rénale compensatrice.

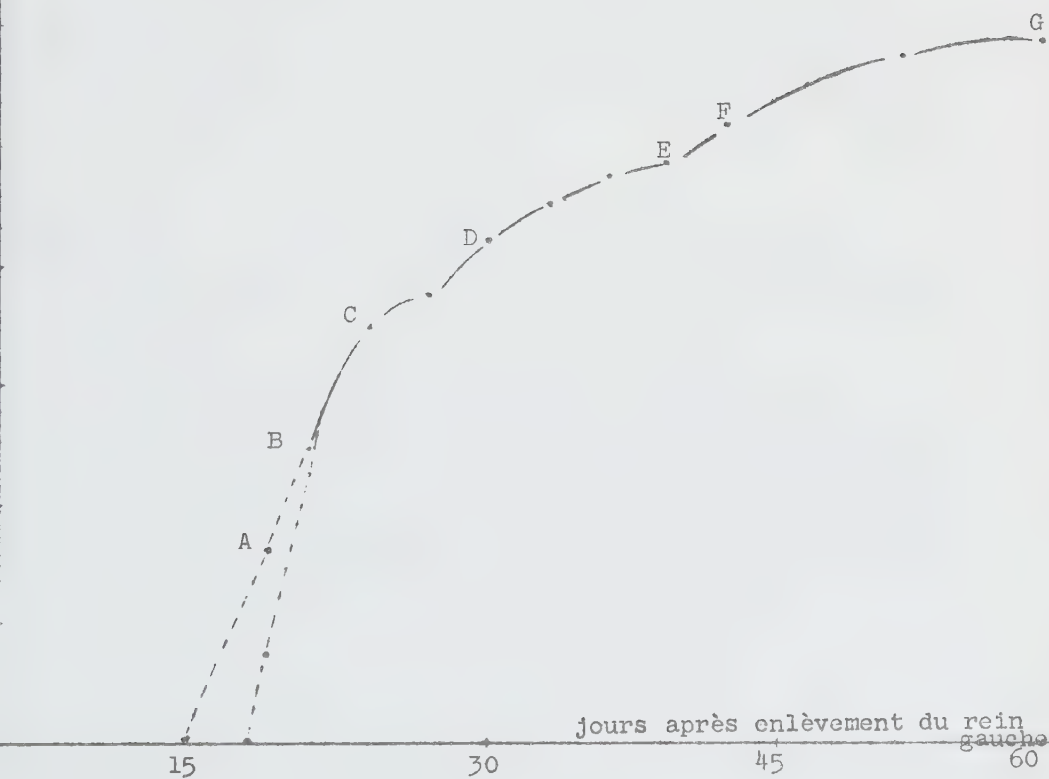
$\frac{Hn + dh (n + 1)}{Hn_0}$ = marquage des mitoses correspondantes à l'hypertrophie rénale compensatrice, rapporté à sa valeur du 15^e jour.

Fig. 17

INCORPORATION DE THYMIDINE TRITIÉE
dans le rein droit en HC, enlèvement du rein
gauche au temps 0

Incorporation relative
de thymidine tritiée
dans le rein droit

$$\frac{H_n + dh(n+1)}{H_n}$$



CHAPITRE III

RECHERCHE DES MEILLEURS PARAMETRES EXPERIMENTAUX POUR L'ETUDE DE L'HRC AU COURS DES PREMIERS JOURS.

I - REPRODUCTIBILITE DES RESULTATS EN HRC

Pour obtenir la reproductibilité des résultats en HRC, il importe d'observer : dans l'utilisation des animaux en expérimentation.

1/ Des conditions classiques : Homogénéité de poids, de sexe, de régime alimentaire, de température d'élevage, de boisson. Nous verrons par la suite qu'il faut aussi une homogénéité génétique d'une souche isologue (la souche homologue présente en effet une distribution gaussienne déplorable du rapport :

ADN du rein droit/ADN du rein gauche

alors que la souche isologue présente un point de repère idéal de (comparaison.)

Il faut observer un horaire fixe de néphrectomie (l'instant le plus favorable pour la réalisation des courbes de 3 jours est 14 heures, plutôt que 20 heures). La notion de durée d'HRC en fonction de laquelle est exprimé le résultat est une conditions nécessaire mais insuffisante, il faut expliciter les résultats selon les périodes de repos et de sommeil.

2/ Conditions spéciales : Outre ces conditions, d'autres doivent être observées pour assurer la reproductibilité des résultats :

a/ Chaque résultat, exprimé en mitoses, doit être absolument défalqué du chiffre de mitoses non liées à l'HRC, recueilli chez l'animal lombotomisé, témoin, ayant reçu des traitements identiques. Cette part de mitoses importante correspond aux mitoses :

- de renouvellement après mort cellulaire
- de croissance en fonction du temps
- de traumatisme post-opératoire

b/ A propos de la néphrectomie, nous n'envisageons que la néphrectomie à 50 % de la masse rénale. Nous gardons le rein restant intact pour ne pas compromettre ses possibilités sécrétoires et enzymatiques. MOBERG (1936) a fait des néphrectomies à 90% de la masse rénale, mais il constate la non reproductibilité des résultats.

c/ Dans toutes nos expériences, nous enlevons le rein gauche. Tous les auteurs précédents enlèvent le rein droit, sans doute parce qu'il était considéré comme étant de 3 à 4% plus lourd que le rein gauche, encore que nous n'ayons point confirmé cette disparité chez la souris.

d/ Le prélèvement du rein en HRC doit être fait en entier (ceci est très important), car il n'est pas possible de prélever des régions comparables, vu la structure hétérogène du rein. Des études de JOSHUA L. EDWARDS (1961) montrent en effet des taux de marquage très différents :

Tissu interstitiel rénal...	4%	de marqueurs injectés.
Zone corticale	0,4	
Zone médullaire	0,1	
Zone glomérulaire	0,8	

e/ La durée du marquage radioactif est en général de 30 mn à quelques heures, pour les études cinétiques de mitoses par auto-radiographies. Nous estimons que ce temps est trop court, pour une étude biochimique quantitative, par rapport au cycle mitotique chez les mammifères. Selon GATTANEO (1961) SHERMAN (1960), le cycle mitotique dure 12 heures, dont 7 heures pour la phase S de synthèse d'ADN pendant laquelle il y a incorporation de Thymidine tritiée. Avec des temps de marquage plus courts, il n'est pas possible d'obtenir des résultats reproductibles.

f/ La dose de 1 micro-c/g de souris est une dose 20 fois trop forte. Cependant nous l'employons volontairement pour tenter de détecter une incorporation quelconque avant le 15^e jour.

Depuis que l'on parle de l'effet-suicide :

- Augmentation de mortalité de micro-organismes par désintégrations locales de marqueurs radio-actifs (d'où organites cellulaires, par suite : mort différée cellulaire selon HERSHEY).
- Des tumeurs chez la souris marquée par le Thymidine tritiée (LISCO 1962).
- De la toxicité sur les greffes de moelle osseuse (SMITH 1962).
- Des mutations qu'elle provoque chez la souris (BATEMAN 1962).

nous devrions nous demander si cette dose, couramment employée pour les études auto-radiographiques surtout, est compatible avec le postulat de dose de la Technique des Indicateurs Nucléaires.

La solution mère de Thymidine tritiée contient 0,09 mg/0,5 mc. 1 souris de 20 g reçoit 20 micro-c = (0,09 mg/0,5) 0,020, soit 3,6 gammas de thymidine.

Les reins acquièrent 3,6 (13/87) = 0,5 gammas de thymidine (1). 1 rein de souris pèse 200 mg =

- 600 gammas d'ADN
- 0,2 . 600 gammas de thymidine (2)
- 120 gammas thymidine

Rapport de dilution :

$$\frac{0,5}{120} \text{ (car il reste un rein après mononéphrectomie.)}$$

soit 1/480, ce qui nous semble excessif.

En posant fixes les paramètres précédents, nous obtenons toujours des courbes d'HRC reproductibles. Notre mode d'expression de résultats montre un index vrai de mitoses en HRC. TAYLOR a montré que les chromosomes sont retransmis aux cellules-filles en "Unités semi-chromatiques" et qu'il n'y a pas de perte de thymidine tritiée une fois incorporée sur l'ADN. La seule inquiétude pour des études auto-radiographiques de mitoses ou pour des prélèvements partiels est la migration cellulaire, mais, ici, cette objection est levée, car nous travaillons toujours par rein entier.

(1) 13/87 : car si l'on injecte 100 imp/mn, il va dans les 2 reins 13 imp/mn au maximum.

(2) Rapport Thymidine/ADN = 0,2.

II - L'HRC DU 1er au 15è JOUR APRES MONONEPHRECTOMIE

L'HRC est un phénomène débutant beaucoup plus tôt que le 15è jour, suivant la mononéphrectomie, après une phase latente préparatoire à la réponse d'emblée au 15è jour. Elle est le résultat d'une cascade de réactions bio-chimiques : certaines rapides, d'ordre probablement enzymatique, d'autres plus lentes dûes au temps de pénétration nucléaire.

Le rein est un tissu à renouvellement cellulaire très lent. Il y a lieu de le distinguer des tissus à renouvellement rapide, toujours en voie de prolifération, où les mitoses s'effectuent installées en permanence à un rythme accéléré, comme dans l'épithélium intestinal, dans l'épiderme malpighien constamment éjecté par la couche germinative... Dans ces tissus, il y a incorporation rapide de Thymidine tritiée (HUGHES 1958), de même dans la rate, plus précisément sur les normoblastes.

Dans le rein, comme dans le foie, comme dans le pancréas, on ne note que peu d'incorporation de thymidine tritiée (HUGHES 1958).

L'incorporation de thymidine tritiée sur l'ADN ne peut être exploitée par un comptage, qu'après la période explosive des mitoses. C'est probablement pour cette raison que CATTANEO (1960) a dû adopter une attente de 11 jours après arrachage des poils de souris, suivi de 48 heures d'irradiation, pour constater l'accroissement de l'in-

dex mitotique vrai, étudié à travers le rapport :

"Noyaux marqués en métaphase/Noyaux marqués" qui atteint 100 % au bout de 7 heures, après injection de thymidine tritiée. Cette durée représente donc la durée de la phase S de synthèse d'ADN dans le cycle mitotique (Travaux originaux de Quastler 1960 sur la cinétique des renouvellements cellulaires).

Tant que la phase explosive des mitoses n'est pas installée (durée 15 jours pour le rein en HRC), tout comptage par scintillation (ou toute mesure auto-radiographique est vouée à l'échec. Il est regrettable que cette condition semble avoir été ignorée de l'équipe de ROGERS (1961) lors de son laborieux travail sur la régénération du foie sur les rats en parabiose double et triple. La conclusion finale est que cet auteur n'a pas pu mettre en évidence un facteur humoral stimulateur ou inhibiteur de l'hypertrophie compensatrice. Toutes les études de cet admirable travail ont été faites à 1, 2, 3, 4 heures après hépatectomie, ce qui est prématuré lorsque l'on veut s'appuyer sur le critère d'incorporation de thymidine sur l'ADN.

b/ La durée interphasique en HRC : cette durée varie en effet en raison inverse de l'incorporation de thymidine tritiée, autrement dit, quand cette durée devient petite, la synthèse d'ADN, d'où l'incorporation de thymidine tritiée, devient grande.

Le temps de renouvellement cellulaire T_r ou (Renewal time R_t ou turnover time T_t) est le temps de remplacement du nombre égal de cellules d'une population.

$$T_r = T_t = R_t$$

On le mesure par l'index mitotique, I_m , qui est le quotient : du nombre de cellules en mitose m /cellules totales N

$$I_m = m/N$$

$Tr = D_m/I_m$ (D_m est la durée mitotique)

= $12/0,05$.. (D_m 12 heures selon CATTANEO, I_m 5% selon HUGHES)

= 240 heures au minimum.

Tr = sensiblement à $D_m + D_i$ qui est la durée interphasique d'où $D_i = 240$ heures - 12 = 228 heures au minimum.

A l'équilibre mitotique (Steady state), le rein a une durée interphasique de 228 heures au minimum. C'est le raccourcissement de D_i qui est la cause de HC. C'est l'accélération et l'augmentation de biosynthèse cytoplasmatique, imposant leur rythme au noyau qui seraient responsables du phénomène.

$1/Tr = Cr$ qui est la constante de renouvellement, c'est-à-dire la fraction de la population remplacée par de nouvelles cellules par unité de temps. Dans un tissu à l'équilibre mitotique (steady state), l'activité mitotique journalière :

$Am_j = Cr = 1/228$ pour le rein, c'est-à-dire $1/228$ de la population qui est remplacée par jour.

Le taux de renouvellement, ou le nombre de cellules, remplacées par jour, dépend de la dimension de la population (mais non de la constante de renouvellement Cr).

On a beaucoup étudié le turnover time (par conséquent Cr) des populations variées de cellules, mais peu de mesures de taux de renouvellement ont été faites.

Quand le temps de renouvellement est rapide (cas de l'épithélium intestinal, du stratum germinativum malpighien...) où la plupart des travaux sont faits, le nombre de mitoses correspondant à la croissance est négligeable devant les mitoses de renouvellement.

Quand Tr est long (cas du rein), on doit absolument en tenir compte pour pouvoir déceler le phénomène d'HRC.

Le problème de reproductibilité de courbes en HC est compliqué encore par la migration cellulaire au sein de sa population, d'après les études histologiques de LEBLOND (1956), mais cette difficulté est supprimée dans notre étude par notre mode de prélèvement du rein complet.

c/ Pourquoi le silence dans le comptage radioactif de la thymidine tritiée de 0 jours à 15 jours après mononéphrectomie ?

1 souris reçoit 20 micro-c = $20 \cdot 10^6$ dés/mn

Dilution au niveau du rein = $\frac{1}{480} = 2 \cdot 10^{-3}$

Estimation de marquage = $5 \cdot 10^{-2}$ au maximum selon JOSHUA L. EDWARDS (1961).

Perte de comptage = 1/6 (3)

(3) Après vérification sur l'installation de comptage.

$$\begin{aligned}\text{Comptage maximal} &= 20 \cdot 10^6 \quad 2 \cdot 10^{-3} \quad 5 \cdot 10^{-2} \quad 1/6 \\ &= 2 \times 2 \times 5 \times 1/6 \quad 10^{7-3-2} \\ &= 200/6, \text{ soit } 33 \text{ imp/mn/rein}\end{aligned}$$

Le mouvement propre étant de 30 imp/mn, pour que le marquage soit significatif, il faut un minimum de dix fois plus d'indicateur, ce qui est impensable.

L'imprécision de comptage entre les 15^e et 18^e jours après mononéphrectomie est donc due à une insuffisance de technique d'une part, d'autre part, à la variation diurne de l'index mitotique.

BULLOUGH (1948) montre en effet une activité mitotique plus grande en période de sommeil, et plus basse en période de réveil. Expérimentalement, la prolifération croît pendant des périodes d'anesthésie et décroît quand les souris sont dans une boîte tournante à axe horizontal.

d/ Principes d'études. Dans ce chapitre, ou dans les chapitres suivants, nous nous basons sur le fait qu'il existe, pour notre souche de souris isologues noires C57 RCH, un rapport constant entre le poids du rein droit et celui du rein gauche du même animal. Des dosages de désoxyribose selon DISCHE affirme cette constante (la valeur de t est égale à 2).

$DR \text{ d/DR } g = 1,05 (\pm 0,04)$ pour souris noires C57 RCH
 $= 1,05 (\pm 0,16)$ pour souris blanches homologues. Les déterminations ont été faites sur 50 bêtes de chaque lot (Tableau 2, 3 - Fig. 18). On voit donc pour le 2^eme lot, des fautes possibles dans l'interprétation des résultats chaque fois que le rapport $DR \text{ d/DR } g$ est inversé.

Ce critère sera toujours rapporté au rapport DR d/DR g d'un animal lombotomisé afin de défalquer la part de mitoses extra-HRC déjà exposée dans le chapitre précédent :

RH d = Rein hypertrophié droit

RH g = Rein normal gauche du même animal

$$RH\ d / RH\ g = 1,05 \text{ l'instant } t_0$$

RL d = Rein de l'animal lombotomisé (rein droit)

RL g = Rein gauche du même animal

$$RL\ d / RL\ g = 1,05 \text{ à l'instant } t_0$$

Le rapport :

$$\frac{RH\ d / RH\ g}{RL\ d / RL\ g}$$

est bien égal à 1 au moment de la néphrectomie.

Nous nous servons de ce rapport pour mesurer les quantités d'eau, de ribose, de désoxyribose dans le rein hypertrophié. Toute augmentation du rapport représente donc fidèlement l'augmentation de l'eau, du ribose, du désoxyribose en période d'HRC.

e/ Estimation du nombre de mitoses/j/rein :

$$\begin{aligned} 1 \text{ rein} &= 200 \text{ mg, soit } 200 \times 1/1,3 \times 10^9 \text{ micron-cubes (1,3 =} \\ &\quad \text{densité du tissu)} \\ &= 2/1,3 \cdot 10^{11} \text{ micron-cubes} \end{aligned}$$

$$1 \text{ cellule : } 10^3 \text{ micron-cubes.}$$

$$\begin{aligned} \text{nombre de cellules dans 1 rein} &= 2/1,3 \cdot 10^{11} \times 10^{-3} = \\ &2/1,3 \cdot 10^8. \end{aligned}$$

A l'équilibre mitotique $Am_j = 1/2,28 \cdot 10^{-2}$ (Cf. Les pages précédentes)

Donc, nombre mitoses/j/rein = $2/1,3 \cdot 10^8 (1/2,28) \cdot 10^{-2}$
 $= 2/3 \cdot 10^6$ à l'équilibre mitotique.

f/ Incorporation maximale au 1er jour après néphrectomie. 1 noyau de cellule somatique de mammifère = $6 \cdot 10^{-6}$ gammas/d'ADN (Vendrelly).

Thymidine renouvelée = $6 \cdot 10^{-6} \times 0,2 \times 2/3 \cdot 10^6 = \frac{2,4}{3}$ gammas/j/rein.

Thymidine marquée = $\frac{2,4}{3} \times \frac{1}{480} = \frac{2,4}{1,3} \cdot 10^{-3}$ gammas/j/rein

R.A.S. à l'injection de la Thymidine =

0,5 mc/0,09 mg, soit 500 microns-c (ou $500 \cdot 10^6$ imp/mn) par 90 gammas.

c'est-à-dire $5/9 \cdot 10^7$ imp/mn/gammas.

Au niveau rénal = $5/9 \cdot 10^7 \times \frac{1}{480} = \frac{10}{9} \cdot 10^4$ imp/mn/gammas

comptage maximal au 1er jour après néphrectomie :

$\frac{10}{9} \cdot 10^4 \times \frac{2,4}{1,3} \cdot 10^{-3} \times 1/6 = 3$ imp/mn/rein donc non comptable

g/ Courbes du désoxyribose lié à l'ADN du rein hypertrophié du 1er au 15è jour après mononéphrectomie (Tableau 3, Fig. 19).

Les acides nucléiques sont extraits selon la méthode de SCHNEIDER, le désoxyribose dosé par la méthode de DISCHE. L'expression des résultats est faite selon le rapport :

$$\frac{RH \text{ d/} RH \text{ g}}{RL \text{ d/} RL \text{ g}} = HC \text{ et selon dHC}$$

R.A.S. = Radio Activité spécifique.

L'analyse de la courbe (Fig. 19) montre que l'HRC présente une augmentation d'ADN dès le 1er jour après la néphrectomie. Cette augmentation est à pentes variables. La courbe "augmentation différentielle" d'HRC en fonction du temps (Fig. 19) exprime la vitesse de synthèse d'ADN. Elle montre:

- un 1er rythme du jour 0 au jour 6
- un 2ème rythme du jour 6 au jour 15

L'HRC est donc un phénomène de biosynthèse très variable. Nous nous bornerons à étudier le phénomène durant les 3 premiers jours après la néphrectomie. Mais avant tout, étant donné la grande variabilité du phénomène, nous préférons procéder à une vérification du taux mitotique en fonction du temps et de l'horaire de néphrectomie.

TABLEAU N° 2 (reporté dans la Fig. 18)

Distribution des rapports d'ADN du rein droit sur ADN du rein gauche chez la souris C57 RCH.

: Souris				: Souris				:
: n°	D	g	D/g	: n°	D	g	D/g	:
: 1	590	578	1,02	: 26	604	567	1,06	:
: 2	605	565	1,07	: 27	595	565	1,05	:
: 3	602	565	1,06	: 28	582	564	1,03	:
: 4	580	562	1,03	: 29	602	589	1,02	:
: 5	610	580	1,05	: 30	598	590	1,01	:
: 6	691	579	1,02	: 31	610	570	1,07	:
: 7	581	563	1,03	: 32	603	567	1,06	:
: 8	602	594	1,01	: 33	600	570	1,05	:
: 9	612	582	1,05	: 34	595	583	1,01	:
: 10	610	580	1,05	: 35	584	566	1,03	:
: 11	607	567	1,07	: 36	583	566	1,03	:
: 12	600	563	1,06	: 37	602	571	1,05	:
: 13	582	563	1,03	: 38	604	566	1,06	:
: 14	589	577	1,02	: 39	605	565	1,07	:
: 15	598	561	1,06	: 40	600	583	1,03	:
: 16	590	560	1,05	: 41	574	562	1,02	:
: 17	600	587	1,02	: 42	602	552	1,09	:
: 18	592	563	1,05	: 43	607	566	1,07	:
: 19	596	559	1,06	: 44	601	563	1,06	:
: 20	606	566	1,07	: 45	600	571	1,05	:
: 21	578	560	1,03	: 46	598	585	1,02	:
: 22	600	560	1,07	: 47	599	559	1,07	:
: 23	620	558	1,09	: 48	602	570	1,05	:
: 24	604	596	1,01	: 49	625	568	1,10	:
: 25	598	561	1,06	: 50	598	581	1,03	:
:				:				:

Moyenne =

$$x = 1,05 \pm 0,04 - (t = 2, P = 0,05)$$

Légende :

D = ADN du rein droit en gammas/rein

g = ADN du rein gauche en gammas/rein

X = moyenne des rapports D/g

t = coefficient de l'écart type σ .

P = probabilité des valeurs extérieures à l'intervalle
 $X \pm t \sigma$

TABLEAU N° 3 (reporté dans la Fig. 18)

Distribution des rapports d'ADN du rein droit sur ADN du rein gauche chez la souris blanche du commerce, génétiquement non déterminée.

D/g	Fréquence en %
0,87	4
0,89	6
0,91	4
0,93	2
0,95	4
0,97	6
0,99	10
1,01	10
1,05	12
1,09	10
1,11	8
1,13	6
1,15	4
1,17	8
1,19	4
1,21	2

Moyenne = $X = 1,05 \pm 0,04$ - ($P = 0,68$)

Légende :

D = ADN du rein droit en gammas/rein

g = ADN du rein gauche en gammas/rein

X = moyenne des rapports D/g

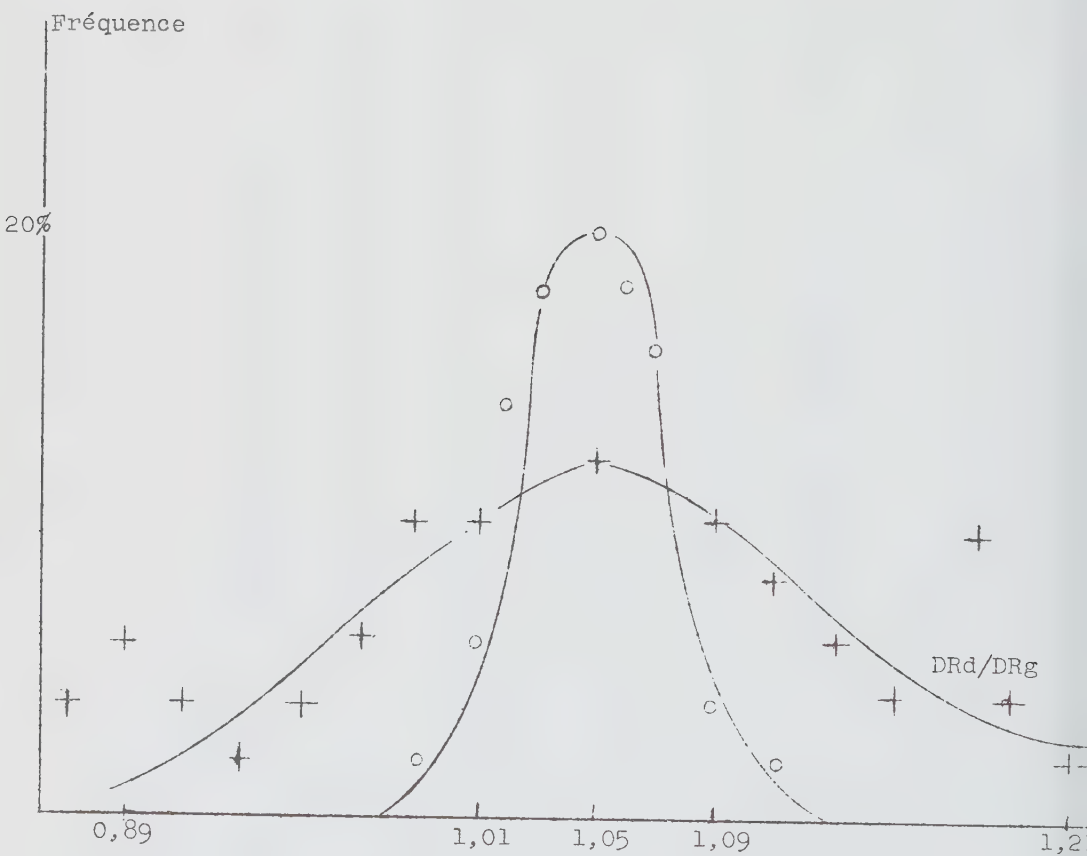
P = probabilité des valeurs extérieures à l'intervalle $1,05 \pm 0,04$.

Fig. 18

DISTRIBUTION DES RAPPORTS DRd/DRg CHEZ LA SOURIS

(o) souche C57 RCH génétiquement déterminée

(+) souche génétiquement indéterminée (souris blanche du commerce)



TABEAU N° 4 (reporté dans la Fig. 19)

Augmentation du rapport ADN du rein droit, sur ADN du rein gauche chez l'animal néphrectomisé (HC) par rapport à celui de l'animal lombotomisé, du 1er au 15è jour après enlèvement du rein gauche.
Vitesse d'hypertrophie rénale compensatrice dHC/dt.

J	0	1	2	3	5	7	8	9	10	15
RHd, m	590	598	605	617	625	737	703	720	744	740
RHg, m	578	560	530	513	496	563	518	515	523	510
RHd/RHg	1,02	1,06	1,14	1,20	1,26	1,30	1,38	1,40	1,42	1,45
RLd, m		597	606	597	623	605	625	670	690	687
RLg, m		575	577	558	582	560	580	616	633	615
RLd/RLg		1,03	1,04	1,06	1,07	1,08	1,08	1,09	1,09	1,10
C	1	1,035	1,105	1,140	1,185	1,280	1,280	1,295	1,315	1,325
HC/dt. 10 ⁻³	0	35	70	35	45	25	70	15	20	10

Légende :

J = Jours après enlèvement du rein gauche

RHd, m et RHg, m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas par rein, chez l'animal en hypertrophie rénale compensatrice, moyenne de 3 expériences

RLd, m et RLg, m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas par rein, chez l'animal lombotomisé, moyenne de 3 expériences.

HC = RHd/RHg rapporté à RLd/RLg ou hypertrophie compensatrice.

dHC/dt = augmentation différentielle dHC/dt, ou vitesse d'HC

Fig. 19

HRC DU 1er AU 15ème JOUR APRES MONONEPHRECTOMIE

Augmentation relative ADN Rd

$\frac{RHd}{RLd} / \frac{RHg}{RLg}$ ou HC

Augmentation différentielle ADN I

$\frac{dHC}{dt}$ ou vitesse d'HC

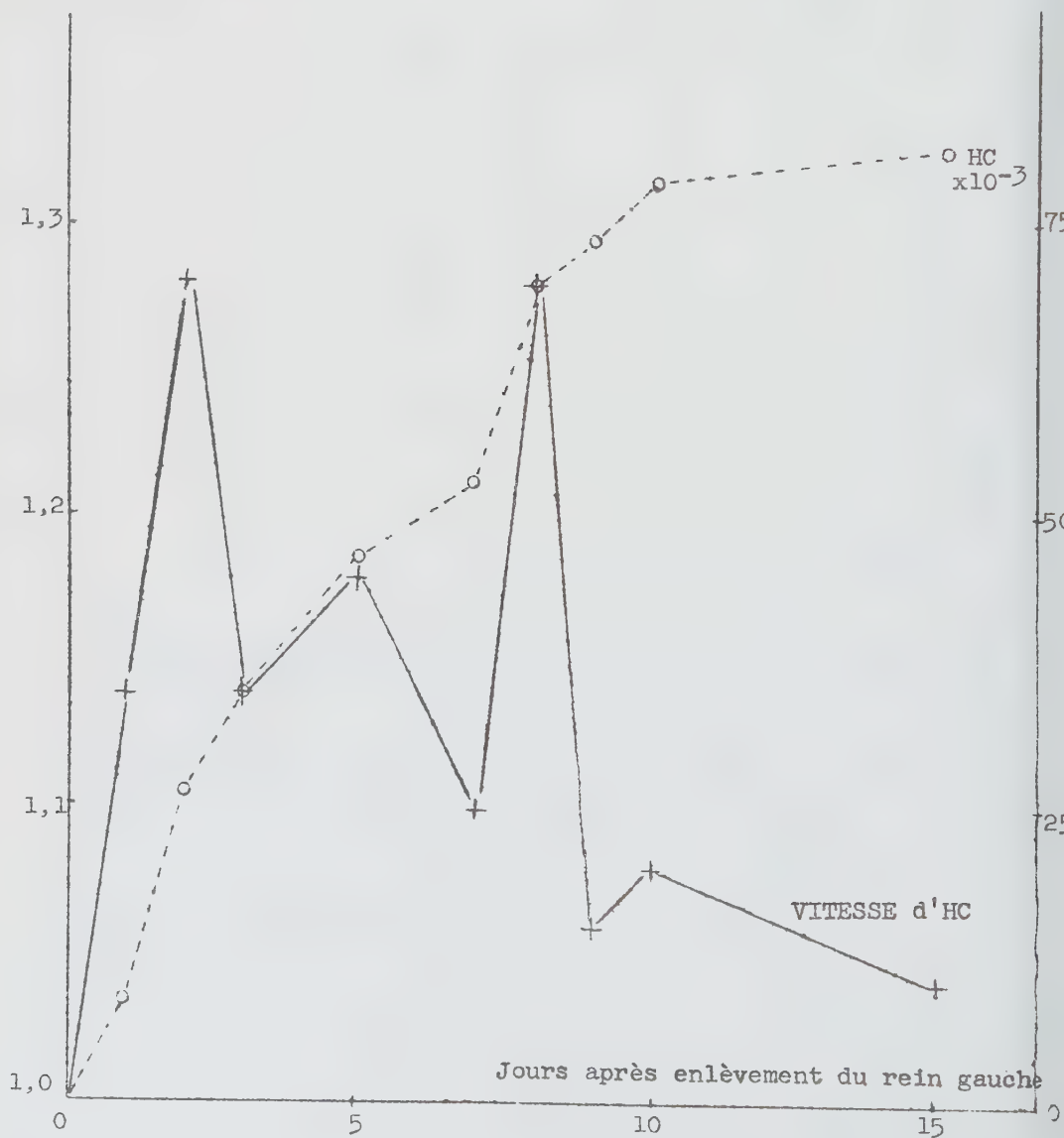


Fig. 19 bis

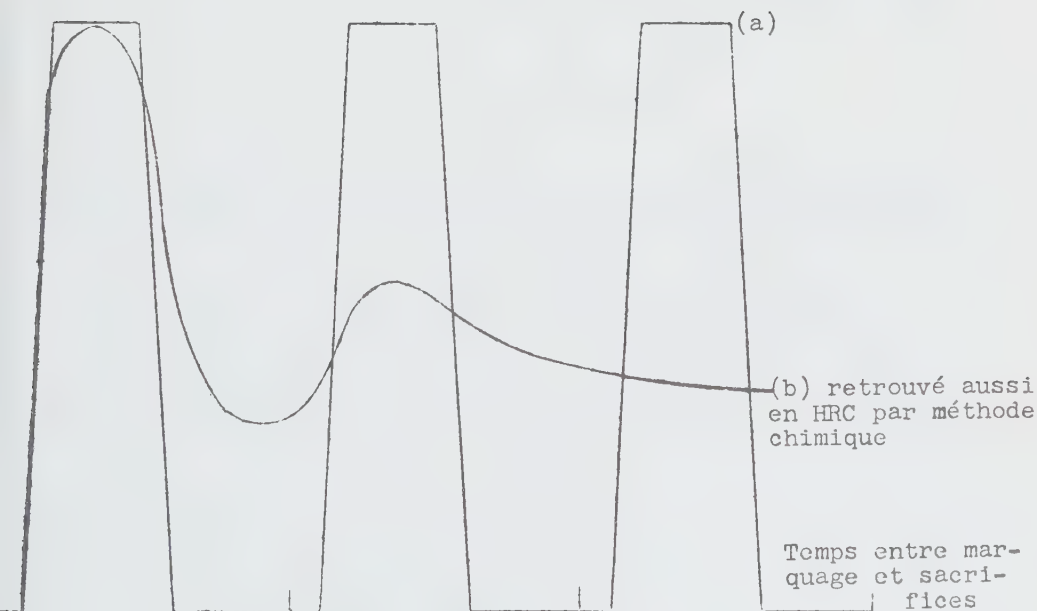
PROLIFERATION CELLULAIRE D'APRES QUASTLER

Mode constant pour tissu à renouvellement lent (tracé a)

Mode variable pour tissu à renouvellement rapide (tracé b)

Une certaine phase mitotique marquée

TOUTES LES MITOSES MARQUEES



III - RECHERCHE DE LA MEILLEURE HEURE DE NEPHRECTOMIE POUR
L'ETUDE DE L'HRC DU 1er AU 3ème JOUR

Nous avons vu que l'HRC est un phénomène très variable. Pour avoir une bonne reproductibilité des résultats, il est important, surtout pour l'étude du phénomène du 1er au 3è jour, de nous placer dans la meilleure position d'expérimentation, et ceci dépend en dernier ressort de l'heure de néphrectomie.

Nous utilisons 3 lots de souris noires C57 RCH que nous néphrectomisons du côté gauche :

- celles du 1er lot à 8 heures
- celles du 2ème lot à 14 heures
- celles du 3ème lot à 20 heures.

Elles sont sacrifiées à 24, 28, 32, 36, 40, 44 heures après néphrectomies. Nous pratiquons les dosages du désoxyribose lié à l'ADN du rein droit et du rein gauche comme précédemment et nous exprimons les résultats de la manière suivante :

$$\frac{\text{DR d/DR g à l'instant t}}{\text{DR d/DR g à l'instant 24 h}}$$

le numérateur et le dénominateur étant rapportés à leur témoin lombotomisé correspondant.

La courbe qui présente le sommet mitotique le plus haut est la courbe de néphrectomie effectuée à 20 heures, 3ème lot. Mais 48 heures après l'opération, sa valeur est plus basse que la courbe de la néphrectomie effectuée à 14 heures, (2ème lot).

Si on estime conventionnellement : la période de réveil 8 heures- 20 heures, la période de repos 20 heures-8 heures- le tableau 5 et la Fig. 20 montrent clairement ceci;

Si l'on distribue les temps de sommeil et d'éveil en périodes de 12 heures ou 6 heures :

Nbre d'heures	d'éveil	de repos	d'éveil	de repos	d'éveil
1er lot	12	12	12	12	
2ème lot	6	12	12	12	6
3ème lot		12	12	12	12

L'avantage en mitoses, constaté à la 40ème heure pour le 3ème lot est vraisemblablement dû à la dernière période de repos (avant dernière période de la séquence). Par contre, le bénéfice mitotique final est observé à la fin de la séquence de 48 heures sur le 2ème lot. C'est donc son horaire d'exécution que nous adopterons.

Pour une meilleure étude de cinétique de mitose, nous sommes convaincus qu'il y a lieu d'élever les animaux dans un endroit obscur et absolument silencieux, et de faire :

- des jours et des nuits artificiels par un système d'éclairage électrique,
- des essais d'accélération de mitoses à l'équilibre mitotique, par la création de périodes de 2 jours + 2 nuits par 24 heures, ou d'autres combinaisons de x jours + y nuits/ 24 heures.
- des effets de bruit ou de silence par sonorisation audible à l'animal en expérience, etc....

TABLeAU N° 5 (reporté dans la Fig. 20)

Recherche de la meilleure heure de néphrectomie

H	:	24	28	32	36	40	44	48
1er lot, N à 8 h	:							
HC	:	1,035	1,071	1,109	1,146	1,183	1,219	1,255
dHC	:	35	36,75	38,50	37,80	37,45	36,75	36,05
$(dHC)_t / (dHC)_{24h}$	:	1	1,05	1,10	1,08	1,07	1,05	1,03
2è lot, N à 14 h	:							
HC	:	1,035	1,072	1,112	1,154	1,199	1,240	1,277
dHC	:	35	37,45	40,25	42,05	45,50	41,65	37,80
$(dHC)_t / (dHC)_{24h}$	:	1	1,07	1,15	1,23	1,30	1,19	1,08
3è lot, N à 20 h	:							
HC	:	1,035	1,073	1,113	1,157	1,204	1,240	1,270
dHC	:	35	38,15	40,30	44,45	47,25	42	30,40
$(dHC)_t / (dHC)_{24h}$	:	1	1,09	1,18	1,27	1,35	1,20	1,04

Légende :

H = Heures après enlèvement du rein gauche

N = Néphrectomie

HC = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche de l'animal néphrectomisé.

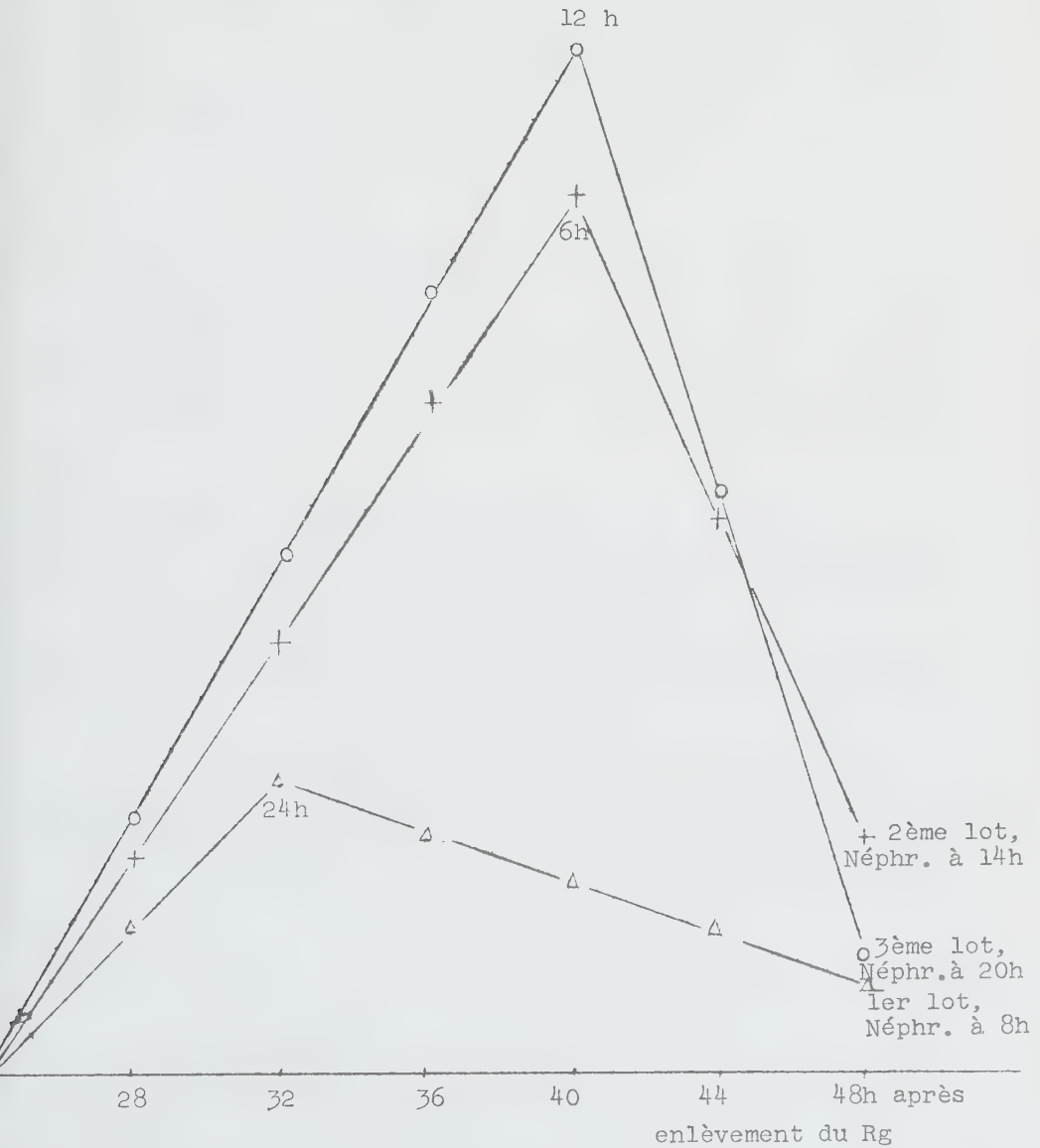
dHC = Augmentation différentielle dHC en pour mille, ou vitesse d'HC.

$(dHC)_t / (dHC)_{24h}$ = vitesse d'HC à l'instant t rapportée à celle à 24 h.

Fig. 20

RECHERCHE DE LA MEILLEURE HEURE DE NEPHRECTOMIE

$\frac{dHc}{dt}$ ou vitesse d'HC



CHAPITRE IV

I - L'HRC PENDANT LES 3 PREMIERS JOURS APRES NEPHRECTOMIE

Nous faisons cette étude en nous basant sur le rapport d'HC, déjà défini dans notre principe d'études (2ème partie, chapitre III), établi pour l'eau, l'ADN, l'ARN du rein. Les valeurs de dHC expriment des augmentations différentielles par période de 12 heures durant les 3 premiers jours après néphrectomie (soit une quantité par un temps), c'est-à-dire la vitesse du mouvement d'eau rénale, la vitesse de formation de l'ADN, de l'ARN rénal.

La courbe du mouvement d'eau est obtenue par pesées des reins droits en HRC avant et après dessiccation à poids constant, en comparaison avec le rein gauche témoin d'une même souris, ceci étant rapporté au quotient témoin obtenu chez une souris noire isologue lombotomisée, traitée dans les mêmes circonstances.

Nous exprimons de même les résultats pour les courbes d'ADN et ARN. L'extraction des acides nucléiques se fait selon la méthode de SCHNEIDER :

Les dosages des acides nucléiques dans une partie aliquote de l'extrait trichloracétique se font par colorimétrie :

- L'ADN par la réaction à la diphenylamine en milieu sulfuro-acétique 15 minutes à 100° C (coloration bleu foncé), spécifique du désoxyribose, d'après la réaction désoxyribose-Dische. L'essai à blanc se fait sans diphenylamine.

- L'ARN par la réaction à l'orcine en milieu chlorhydro-perchlorique 15 minutes à 100° C (coloration bleu vert extraite par l'alcool amylique), d'après MEJBAUM.

Les tableaux n° 6, 7 et la Fig. 21 montrent que la courbe d'eau représente un maximum à 1 jour 1/2 ainsi que la courbe de ribose. Y a-t-il une relation entre ces 2 corps ? L'eau sert-elle à la mise en place du ribose ? Nous répondrons à cette question dans les pages suivantes. La courbe du désoxyribose est maximale à 2 jours. Comment allons-nous comprendre le décalage de 12 heures entre ces 2 pics ?

TABLEAU N° 6 (reporté dans la Fig. 21 et 44)

Augmentation différentielle du rapport ADN du rein droit sur ADN du rein gauche chez l'animal néphrectomisé par rapport à celui de l'animal lombotomisé, du 1er au 3è jour après enlèvement du rein gauche (ou vitesse de formation d'ADN du rein hypertrophié).

J	:	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
RHd, m	:	590	575	601	624	590	694	738
	:	587	573	600	623	588	688	740
	:	585	571	598	619	588	685	734
	:	587	573	599	622	585	689	737
	écart	3	2	2	3	5	5	$3 = \frac{23}{6} = 3$
RHg, m	:	578	555	562	577	525	593	585
	:	576	553	560	575	524	588	583
	:	575	550	558	573	522	587	578
	:	576	552	560	575	524	588	582
	écart	2	3	2	2	2	5	$4 = \frac{20}{6} = 3$
RHd/RHg = H		1,02	1,04	1,07	1,09	1,12	1,16	1,19
RLd, m	:		598	600	578	602	604	600
	:		600	601	580	598	604	599
	:		598	590	582	596	601	595
	:		595	596	580	598	603	598
	écart		5	5	2	4	1	$3 = \frac{20}{6} = 3$
RLg, m	:		585	570	560	565	587	563
	:		587	575	562	561	586	561
	:		578	577	563	559	583	558
	:		583	577	561	561	585	560
	écart		5	2	2	4	2	$3 = \frac{18}{6} = 3$
RLd/RLg = L			1,02	1,03	1,03	1,04	1,05	1,06

Légende :

J = Jours après enlèvement du rein gauche.

RHd, m et RHg, m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas/rein, chez l'animal en hypertrophie rénale compensatrice, moyenne de 3 expériences.

RLd, m et RLg, m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas/rein, chez l'animal lombotomisé, moyenne de 3 expériences.

SUITE DU TABLEAU N° 6

J	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
HC	100	102	104,256	106,520	108,856	111,160	113,448
dHC	0	2	2,256	2,264	2,336	2,304	2,288
$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$		1	1,128	1,132	1,168	1,152	1,144
2σ							0,01
P							0,05

Légende :

J = Jours après enlèvement du rein gauche

HC = Quotient en pour cent du rapport H/L

H = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal néphrectomisé

L = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal lombotomisé.

$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$ = variation différentielle dHC à chaque instant rapportée à dHC du jour 0,5

σ = écart type

P = probabilité extérieure à l'intervalle $\pm 2\sigma$

TABEAU N° 7 (Reporté sur les Fig. 21, 25, 30)

Vitesse de formation d'ARN, d'eau rénale, de glycogène rénal, de protéines rénales, du rein hypertrophié, du 1er au 3è jour après enlèvement du rein gauche.

J	:	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
Vitesse de formation:	:							
<u>d'ARN</u>	:							
HC	:	100	103	106,402	109,912	113,338	116,812	120,244
dHC	:	0	3	3,402	3,510	3,426	3,474	3,432
$d(HC)_t/d(HC)_{0,5}$	:		1	1,134	1,170	1,162	1,158	1,144
Vitesse de formation:	:							
<u>d'eau rénale</u>	:							
HC	:	100	103	106,432	109,942	113,434	116,914	120,376
dHC	:	0	3	3,432	3,510	3,492	3,480	3,462
$d(HC)_t/d(HC)_{0,5}$	:		1	1,144	1,170	1,164	1,160	1,154
Vitesse de formation:	:							
<u>du glycogène rénal</u>	:							
HC	:	100	103	106,420	109,936	113,416	116,884	120,340
dHC	:	0	3	3,420	3,516	3,480	3,468	3,456
$d(HC)_t/d(HC)_{0,5}$	:		1	1,140	1,172	1,160	1,156	1,152
Vitesse de formation:	:							
<u>de protéines rénales:</u>	:							
HC	:	100	103	106,306	109,624	112,996	116,428	119,914
dHC	:	0	3	3,306	3,318	3,372	3,432	3,486
$d(HC)_t/d(HC)_{0,5}$	:		1	1,102	1,106	1,124	1,144	1,162

Légende :

J = jours après enlèvement du rein gauche

HC = quotient en pour cent du rapport H/L

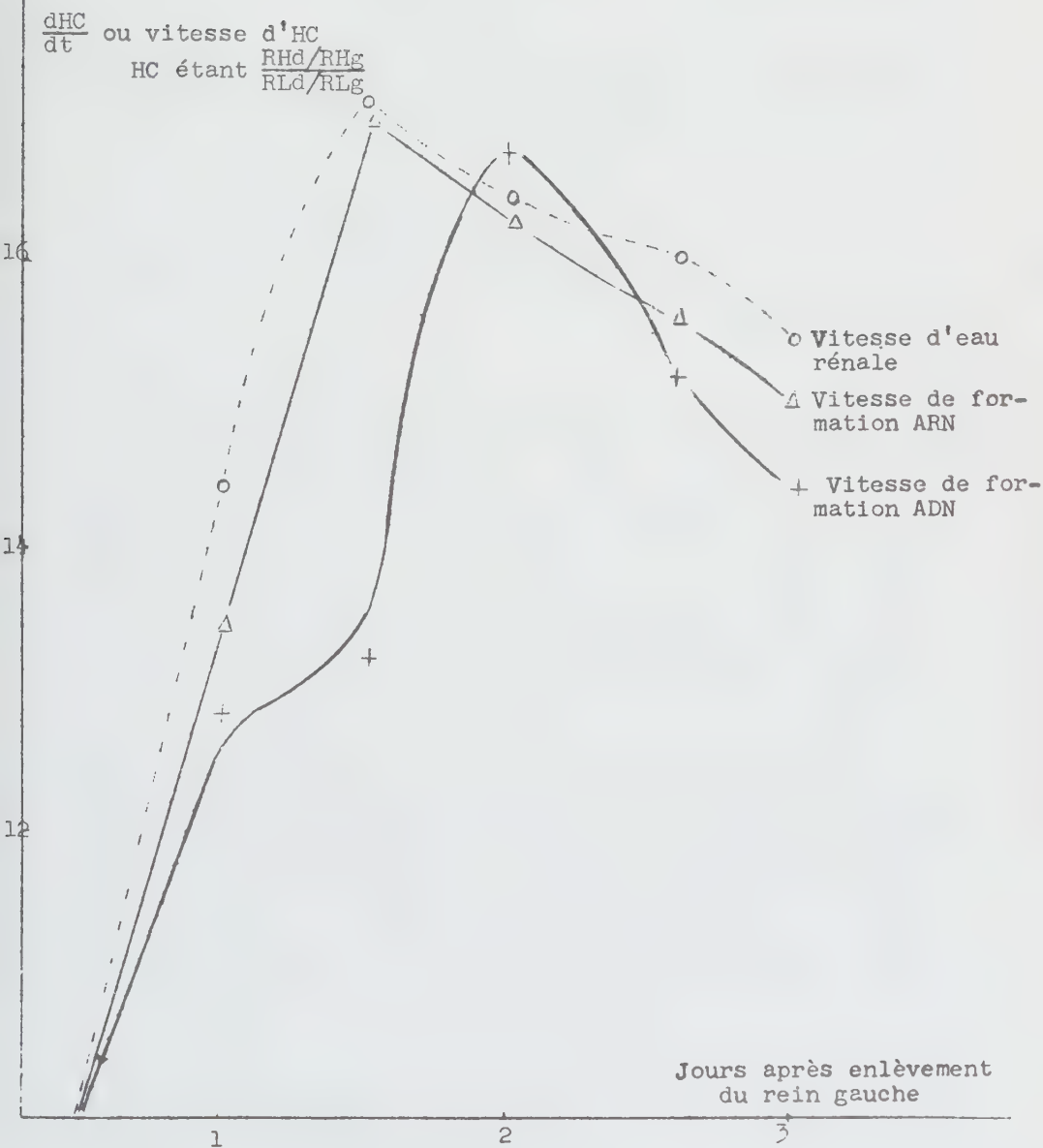
H = ARN (ou eau, ou glycogène, ou protéines) du rein droit sur "le même constituant" du rein gauche, chez l'animal néphrectomisé.

L = ARN (ou eau, ou glycogène, ou protéines) du rein droit sur "le même constituant" du rein gauche, chez l'animal lombotomisé.

$d(HC)_t/d(HC)_{0,5}$ = variation différentielle dHC à chaque instant rapporté à dHC du jour 0,5.

Fig. 21

HRC PENDANT LES 3 PREMIERS JOURS
après néphrectomie



II - COURBE DU GLYCOGENE RENAL DU 1er au 3ème JOUR D'HRC

Nous dosons le glycogène sur le lieu même du phénomène selon la technique de GOOD (1933) suivie du dosage des monoses selon FONTY (1950).

L'expression des résultats se fait selon les augmentations différentielles de glycogène du RH d/RH g, rapportées au quotient RL d/RL g d'une souris isologue lombotomisée, traitée dans les mêmes circonstances.

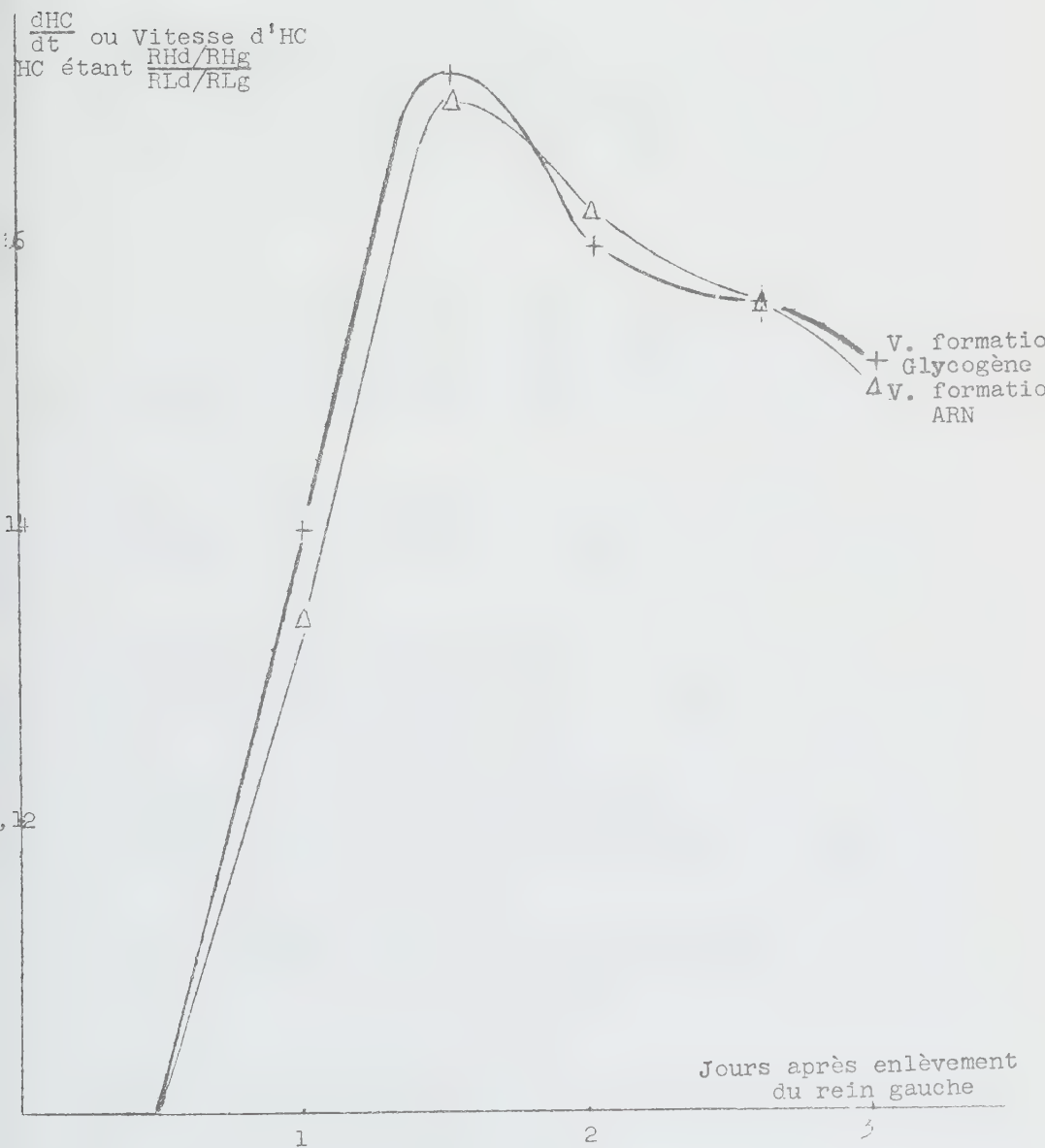
Les résultats sont rapportés dans le tableau n° 7 et dans la Fig. 25. Nous constatons avec surprise le parallélisme des courbes du glycogène et du ribose, maximales à 1 jour 1/2 après la néphrectomie.

En nous appuyant sur les travaux de BULLOUGH (1950-1952), qui montrent l'augmentation du glycogène tissulaire pendant les périodes mitotiques actives, nous suggérons l'interprétation suivante : le précurseur du ribose pourrait être un des dérivés du glycogène. Ce problème de passage du C6 en C5 chez les mammifères en HRC est un phénomène rapide, vraisemblablement enzymatique; cette interconversion par glucose-6-phosphate et ribose-5-phosphate, est confirmée, in vitro, dans les érythrocytes par TUPULE (1959), HISCHE (1958); COURI (1959).

La coïncidence des pics glycogène et ribose laisse penser que la synthèse de l'ARN en HRC est rapide, après l'interconversion. Il n'en est pas de même pour le pic de l'ADN qui est décalé de 12 heures représentant le temps de propagation des réactions biochimiques du cytoplasme vers le noyau, via le nucléole, autrement dit le temps de passage de la double membrane nucléaire... ceci dépasse le cadre de ce travail.

Fig. 25

VITESSE DE FORMATION DU GLYCOGENE RENAL
pendant les 3 premiers jours après né-
phrectomie en comparaison avec la vitesse
de formation d'ARN rénal



III - RESULTATS DES DOSAGES DE PROTEINES INTRACELLULAIRES RENALES EN HRC.

L'extraction des protéines intracellulaires rénales a été décrite dans la 2ème partie, chapitre VIII.

Le dosage se fait par la réaction de biuret selon ARDRY, mais après précipitation des protéines, de façon à ne doser que les protéines vraies, après élimination des polypeptides dont la présence pourrait interférer sur les dosages d'une manière néfaste.

Les résultats des dosages relatifs au rein droit en HC sont rapportés à ceux de son homologue le rein gauche. Ce rapport est ensuite comparé à celui venant d'un témoin lombotomisé. Et nous exprimons les résultats finaux en augmentations différentielles par 12 heures.

Le tableau 7 et la fig. 30 donnent la vitesse de formation de protéines intracellulaires rénales en HRC en comparaison avec celles de l'ARN et de l'ADN.

A 1 jour 1/2, l'ARN atteint la vitesse maximale de formation, celle des protéines intracellulaires rénales ne fait qu'augmenter que très peu, d'une manière insignifiante. Quand la vitesse de formation d'ADN franchit son seuil de transition entre 1 jour et 1 jour 1/2, celle des protéines augmente, mais elle augmente encore au-delà de 2 jours, temps au bout duquel la vitesse de formation de l'ADN commence à décroître.

Il est intéressant de noter que la vitesse de formation

des protéines continue encore à croître même à 3 jours. Sa formation est très retardée, par rapport à celle de l'ARN et l'ADN, mais sa vitesse de formation reste croissante au-delà de 3 jours pendant que celles des autres décroissent respectivement à 1 jour 1/2 et 2 jours.

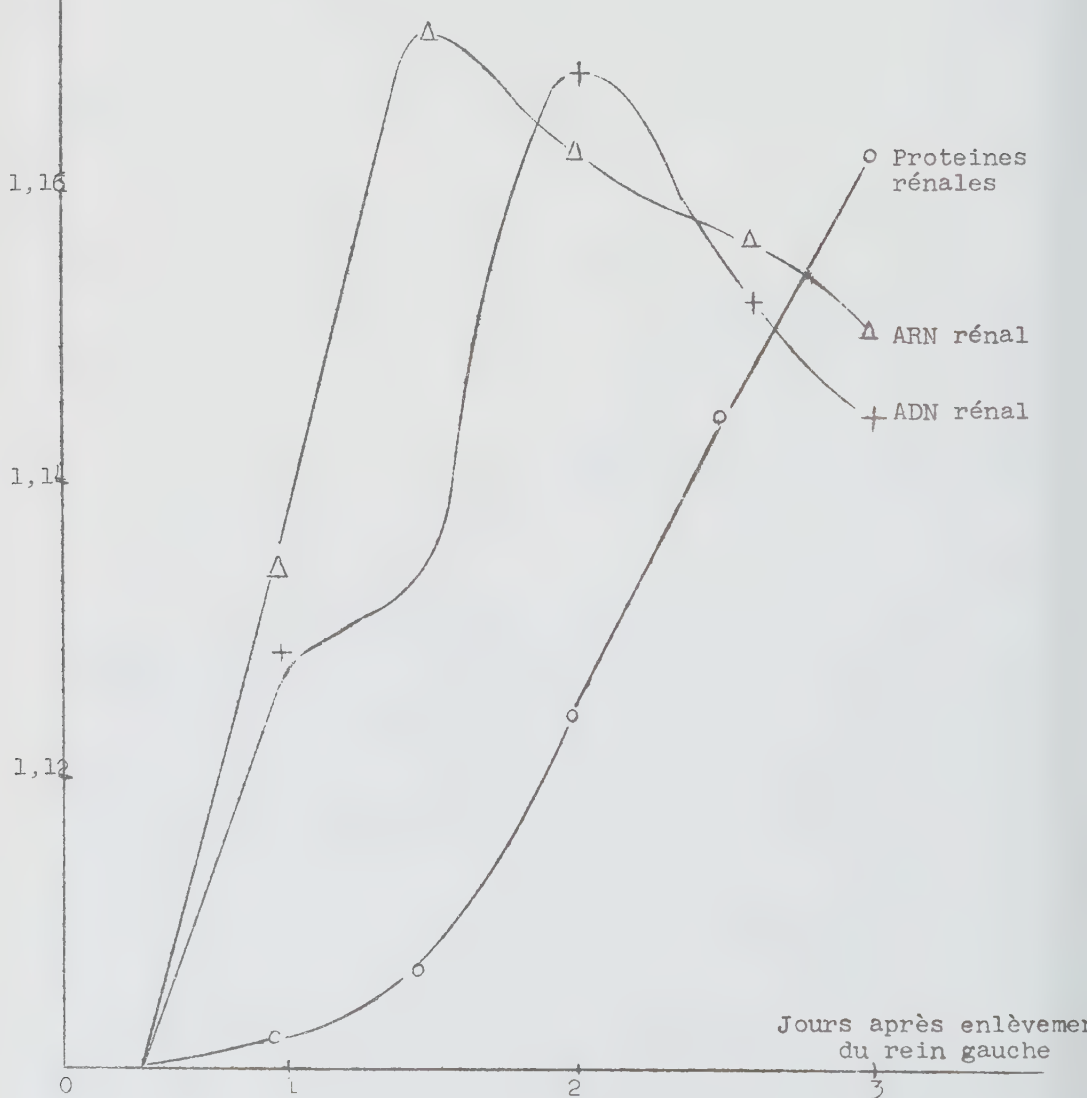
Tout se passe comme si les protéines nouvellement formées n'entrent pas dans les synthèses des constituants biochimiques durant les 2 ou 3 premiers jours de l'HRC.

Fig. 30

VITESSE DE FORMATION DES PROTEINES INTRACELLULAIRES RENALES

chez la souris en HRC, comparée avec celles d'ARN et d'ADN rénaux

Vitesse de formation



CHAPITRE V

MODIFICATION DE L'EVOLUTION DE L'EAU, DE L'ARN EN HRC PAR DES INJECTIONS D'EXTRAITS DE TISSU D'ANIMAUX ISOLOGUES EN VOIE D'HRC.

Nous préférons attendre au 3ème jour d'HRC pour faire la mesure de l'eau, l'ADN, l'ARN. Leur vitesse maximale de formation étant alors acquise à cet instant, la mesure des éléments exprime les transformations quantitatives avec plus de certitude.

Les préparations pour injection sont faites à partir des souris isologues C57 RCH en voie d'HRC au 3è jour. Nous prélevons l'uretère droit avec le ganglion aortico-rénal, le cerveau, l'antehypophyse, la post-hypophyse; ces prélèvements sont broyés séparément au mortier avec du sable de Fontainebleau, avec du soluté de ClNa à 9 ‰ qsp 5 ml pour chaque prélèvement. On obtient respectivement les préparations : U, C, AH, PH.

On en injecte dans le péritoine 0,5 ml par souris, au moment de la néphrectomie. Au 3ème jour, on dose l'eau, l'ADN, l'ARN du rein en HRC et compare les résultats exprimés par le rapport RH d/ RH g.

Il est à remarquer que nous visons à déceler un facteur de régulation à distance, et, de ce fait, nous écartons l'extrait tissulaire rénal isologue en voie d'HRC où doivent se trouver de nombreux facteurs biochimiques responsables d'HRC, ce qui ne manquerait pas de conférer une ambiguïté à l'interprétation de cette expérience.

a/ Action des préparations sur la vitesse de l'eau rénale (Tableau n° 8 et Fig. 22) ;

La préparation post-hypophysaire PH freine le mouvement par l'effet de l'hormone antidiurétique. La préparation de l'uretère U crée un appel d'eau dans le rein. Par quel mécanisme ? Nous revoyons avec intérêt l'expérience de J.L. BOTLMANN (1935): Transplantation dans le duodénum, de l'uretère du rein en HRC. Dans cette expérience, on a constaté que, dès le 3ème jour après la néphrectomie, l'urémie de l'animal a passé de 21 mg % à 116 mg %, soit une rétention d'urée de plus de 500 %.

Par l'expression $c = uV/P$ de la clearance rénale (1), DEJOURS (1950) a montré que le travail osmotique rénal en HRC est augmenté (élimination dans l'urine à une concentration plus grande). Avec des surcharges de cristalloïdes, l'auteur a montré l'augmentation parallèle de c et u (V et P étant constants).

Toutes choses égales par ailleurs, dans notre expérience, l'extrait d'uretère traduit une augmentation de V , par suite un allègement du travail osmotique rénal. L'expérience de BOLLMAN montre une surcharge du travail osmotique par l'absorption d'urée.

b/ Action des préparations sur l'ARN rénal (Tableau 8 et Fig. 23) : les préparations d'uretère et de post-hyphyse PH ont une action sur le mouvement d'eau rénale, mais elles n'ont aucune action sur la vitesse de formation d'ARN rénal car le rapport

(1)

c = clearance rénale

u = urée urinaire en g %/oo

V = volume d'urines en litre/24 heures

P = urée sanguine en g %/oo

RH d/RH g n'a pratiquement pas bougé. Nous sommes en droit de penser que l'eau rénale est une eau de passage. Elle est influencée seulement par la préparation post-hypophysaire PH. Cette eau n'a aucun rôle de transport pour les précurseurs d'ARN en HRC. La préparation possède par contre une action de stimulation nette.

b/ Action des préparations sur l'ADN rénal (tableau 8 et Fig. 24). Le fait le plus marquant est l'augmentation de l'ADN par la préparation.

Notes : 1/ Ici, comme ailleurs, on note un gonflement de 500 % au moins des trompes utérines des souris femelles en expérience ayant reçu du AH, action due vraisemblablement aux gonadostimulines hypophysaires.

2/ Le Thiotépa : antimitotique chromosomique Spécia (TFPA = Triéthylène phosphoramide) provoquant une diminution irréversible des mitoses in vitro. Employé dans nos expériences à la dose de 0,1 gamma/g de souris, ne provoque aucun effet de freinage (ni de stimulation) sur l'HC mesurée avec les courbes d'Eau, ADN, ARN. Ces résultats négatifs ne sont pas reportés sur les Figures précédentes pour ne pas les surcharger.

Avant d'entamer la discussion, où nous reparlerons de l'effet négatif des antimitotiques en HC, il reste un problème à résoudre : celui du passage de C6 (glycogène) à C5 (ribose).
(1)

(1) ou pentose, dans son sens plus général.

TABLEAU N° 8 (reporté dans les Fig. 22, 23, 24)

Modification des vitesses de formation d'ADN, d'ARN, d'eau du rein hypertrophié au 3è jour après enlèvement du rein gauche, par des injections d'extraits de tissus des animaux isologues, en voie d'hypertrophie rénale compensatrice.

	J	Pas d'inj.	C	AH	U	PH
<u>ADN Rénal</u>						
HC	0	100				
	0,5	102				
	2,5	111,160	111,879	112,890	110,031	109,030
	3	113,448	114,215	114,110	112,315	112,310
dHC	3	2,288	2,386	2,320	2,284	2,280
$(dHC)_t/(dHC)_{0,5}$	3	1,144	1,168	1,160	1,142	1,140
<u>ARN rénal</u>						
HC	0	100				
	0,5	103				
	2,5	116,812	116,130	116,706	121,105	121,121
	3	120,204	119,510	120,112	124,543	124,565
dHC	3	3,432	3,380	3,406	3,438	3,444
$(dHC)_t/(dHC)_{0,5}$	3	1,144	1,160	1,156	1,146	1,148
<u>Eau rénale</u>						
HC	0	100				
	0,5	103				
	2,5	116,914	115,962	114,997	120,641	113,485
	3	120,376	119,412	118,423	124,121	116,875
dHC	3	3,462	3,450	3,426	3,480	3,390
$(dHC)_t/(dHC)_{0,5}$	3	1,154	1,150	1,142	1,160	1,130

J = Jours après enlèvement du rein gauche.

C = Injection d'extraits de cerveau

AH = Injection d'extraits à'ante-hypophyse

U = Injection d'extraits d'uretère

PH = Injection d'extraits de post-hypophyse

HC = Quotient en pour cent du rapport H/L

H = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche chez l'animal néphrectomisé.

L = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche chez l'animal lombotomisé.

dHC = Variation différentielle des valeurs HC par 0,5 jour.

$(dHC)_t/(dHC)_{0,5}$ = Variation différentielle dHC à chaque instant rapportée à dHC du jour 0,5

Fig. 22

MODIFICATION DE LA VITESSE D'EAU RENALE
au 3ème jour, par des injections d'extraits de tissus
des animaux isologues en voie d'HRC

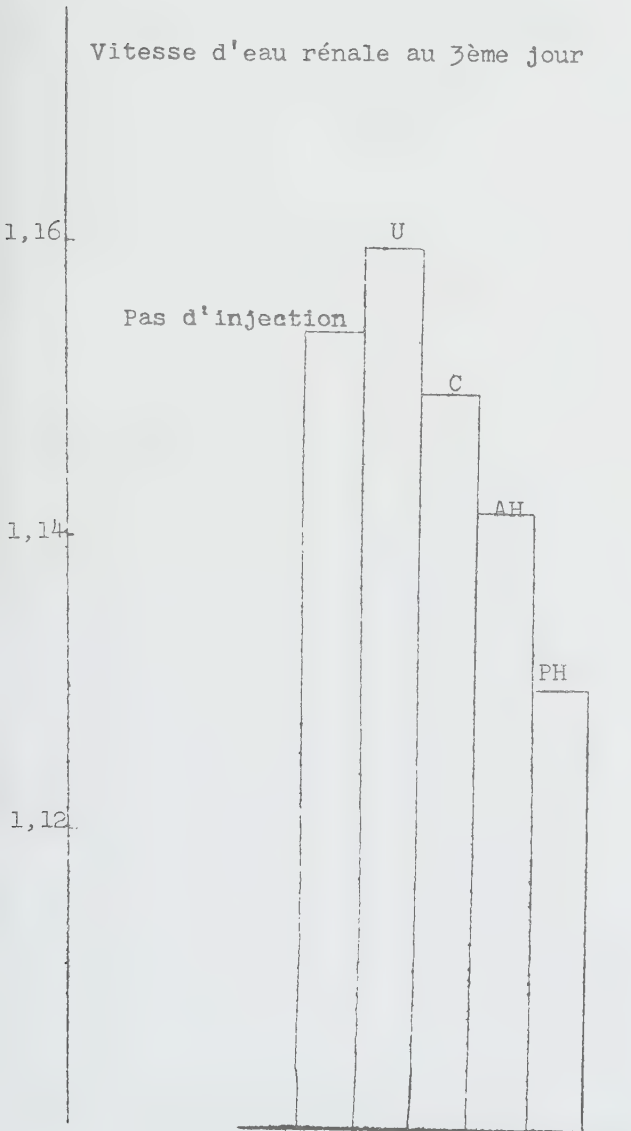


Fig. 23

MODIFICATION DE LA VITESSE DE FORMATION D'ARN RENAL
au 3ème jour, par des injections d'extraits de tissus des animaux
isologues en voie d'HRC

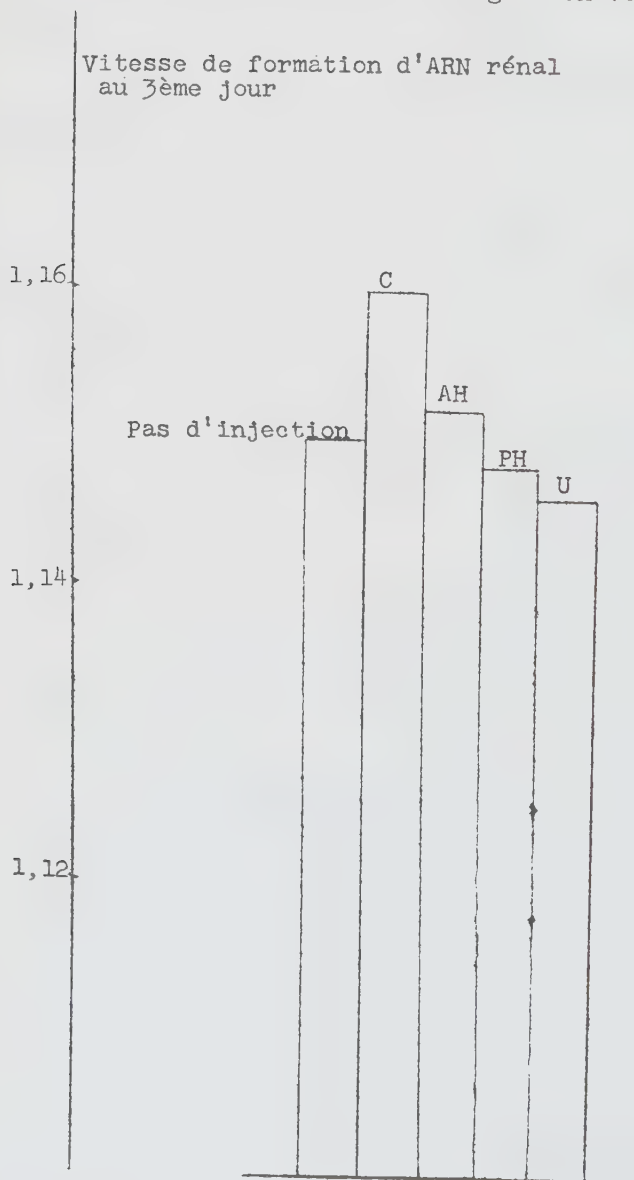


Fig. 24

MODIFICATION DE LA VITESSE DE FORMATION D'ADN RENAL
au 3ème jour, par des injections d'extraits de tissus des animaux
isologues en voie d'HRC

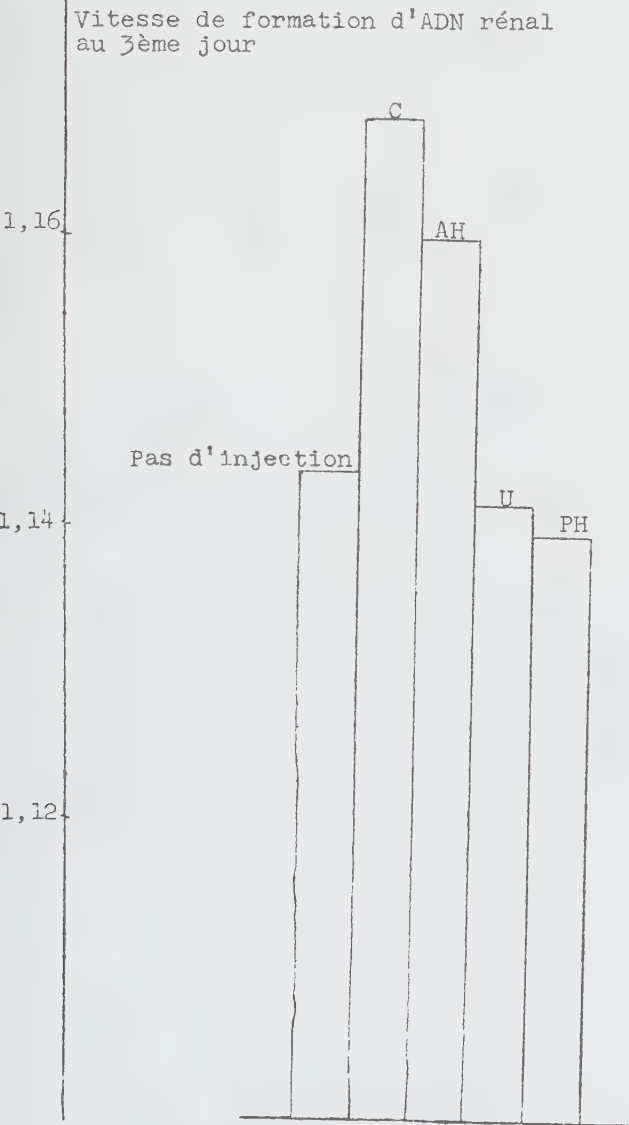


TABLEAU n° 9 (reporté dans la Fig. 24bis)

Modification de la vitesse de formation d'ADN rénal du rein droit au 3è jour après enlèvement du rein gauche, par des injections d'extraits de cerveau de souris.

	J	Pas d'inj.	Iso	HRC	homo	HRC	Iso	Homo
HC	0	100						
	0,5	102						
	2,5	111,160	113,886	111,211	109,962	109,962		
	3	113,448	116,222	113,515	112,246	112,250		
dHC	3	2,288	2,336	2,304	2,284	2,288		
$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$	3	1,144	1,168	1,152	1,142	1,144		

J = Jours après enlèvement du rein gauche.

HC = Quotient en pour cent du rapport H/L

H = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal néphrectomisé

L = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal lombotomisé.

dHC = Variation différentielle des valeurs HC par 0,5 jour.

$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$ = variation différentielle dHC à chaque instant rapportée à dHC du jour 0,5.

iso HRC = Injection d'extrait de cerveau de souris isologues, en voie d'hypertrophie rénale compensatrice à 3 jours.

homo HRC = Injection d'extrait de cerveau de souris homologues en voie d'hypertrophie rénale compensatrice à 3 jours.

Iso = Injection d'extrait de cerveau de souris isologues normales.

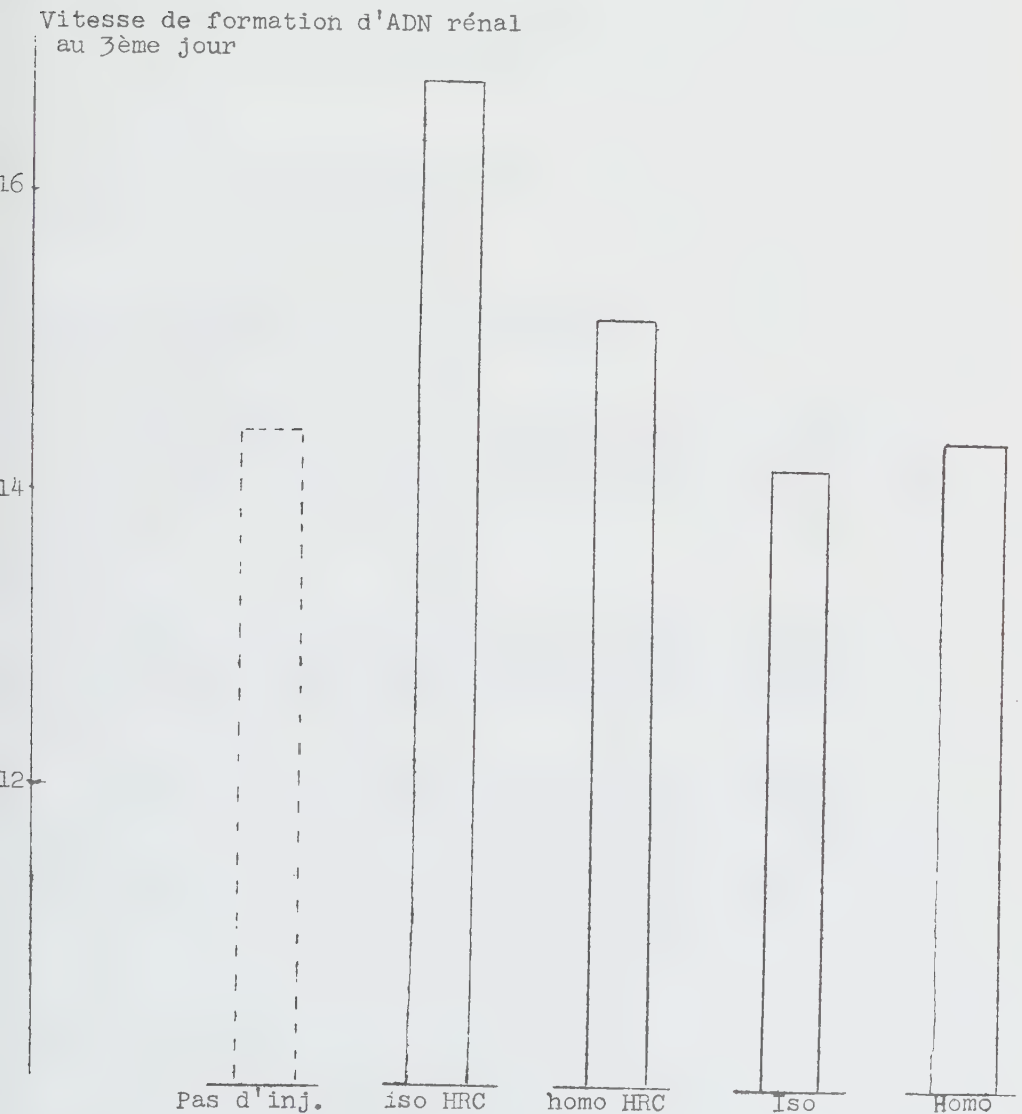
Homo = Injection d'extrait de cerveau de souris homologues normales.

Fig. 24 bis

MODIFICATION DE LA VITESSE DE FORMATION D'ADN RENAL

au 3ème jour, par des injections d'extrait de cerveau de souris

isologue en HRC à 3 jours = iso HRC
homologue en HRC à 3 jours = homo HRC
isologue normale = iso
homologue normale = homo



CHAPITRE VI

INCORPORATION DE L'ACIDE GLUTAMIQUE RADIOACTIF DANS LES PROTEINES CEREBRALES LE 3ème JOUR APRES NEPHRECTOMIE

Après la néphrectomie, chaque souris C57 RCH reçoit en injection dans le cisterna magna de l'acide glutamique radio-actif C-14 selon les normes mentionnées dans la 2ème partie, chapitre VI.

Le 3ème jour après la néphrectomie, nous sacrifions les animaux par strangulation et nous prélevons le cerveau, à la pince et aux ciseaux.

Le cerveau, épongé de son sang, lavé rapidement dans de l'eau distillée pour détruire les hématies par hémolyse, desséché par du papier absorbant en tissu cellulosique, est ensuite disséqué sur une lame porte-objets, avec une pince et un bistouri, selon les régions explicitées dans la Fig. 7. On fait de même avec les témoins lombotomisés, soumis dans des conditions identiques sauf la néphrectomie unilatérale gauche.

L'extraction des protéines cérébrales et le comptage de l'acide glutamique radio-actif C-14 incorporé se font comme il fut mentionné dans la 2ème partie, chapitre VI.

Le tableau 10 et la Fig. 27 récapitulent les moyennes des comptages, mouvement propre déduit. L'incorporation d'acide glutamique dans les hémisphères est légèrement plus forte que celle dans le cervelet et le bulbe. Mais cette différence

est à peine perceptible, et nous nous demandons s'il est valable de la considérer comme telle. Par contre, l'incorporation dans les régions diencéphaliques est très importante chez l'animal néphrectomisé. Elle peut être éclairée en rapportant l'incorporation régionale (IR) à l'incorporation total (IT).

Le tableau 10 et la fig. 28 récapitulent ces résultats et montrent un fait excessivement important, mis en évidence par ce mode d'exploitation des résultats :

Le rapport :

$$\frac{(IR/IT)_N}{(IR/IT)_L}$$

révèle en effet une incorporation dans la région diencéphalique au détriment des autres régions dans lesquelles ce rapport est inversé et devient plus petit que 1.

Cette incorporation d'acide glutamique radioactif C-14 dans la région diencéphalique, démontre sans conteste l'augmentation du métabolisme cérébral de cette région lors de l'HRC.

Mais l'on est en droit de se demander si cette incorporation est en corrélation avec l'HRC, ou simplement avec la néphrectomie, c'est-à-dire avec la synthèse d'ADN rénal, ou simplement avec la suppression du fonctionnement rénal.

TABEAU N° 10 (reporté dans les Fig. 27 et 28)

Incorporation d'acide glutamique C-14 dans les protéines
cérébrales, chez la souris au 3ème jour après néphrectomie
ou lobotomie.

: Région :	: Animal néphrectomisé :		: Animal lobotomisé :		: N/L :
	: coups/mn	IR/IT en %	: coups/mn	IR/IT en %	
: H :	25	14,1	: 20	26,4	: 0,53 :
: D :	123	71,5	: 25	33,2	: 2,32 :
: C :	15	8,7	: 17	22,4	: 0,38 :
: B :	10	5,7	: 14	18	: 0,36 :
: :	---		: --		: :
: :	173		: 76		: :

Légende :

H = Hémisphère.

D = Diencéphale

C = Cervelet

B = Bulbe

IR/IT en % = Incorporation régionale sur Incorporation totale
en pour cent.

Fig. 27

INCORPORATION D'ACIDE GLUTAMIQUE C-14

dans les protéine cérébrales, chez la souris en HRC
au 3ème jour

----- Témoin lombotomisée

Moyenne des comptages
Mp déduit

imp/mn

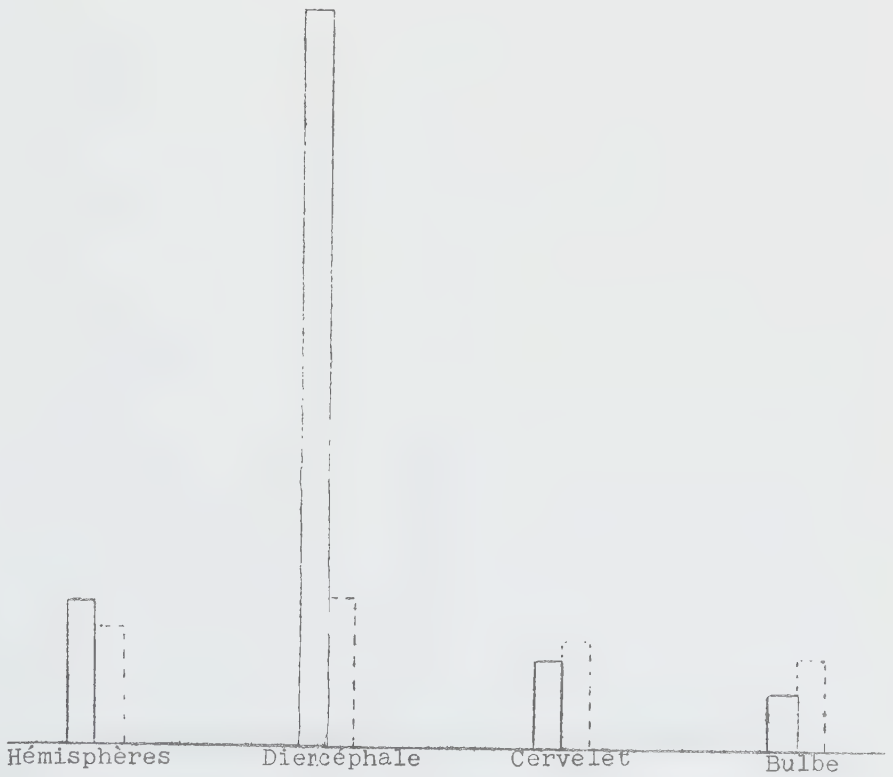


Fig. 28

INCORPORATION D'ACIDE GLUTAMIQUE C-14

dans les protéines cérébrales, chez la souris en HRC
au 3ème jour

----- Témoïn lombotomisée

IR/IT en %

IR = Incorporation dans chaque région
IT = Incorporation totale dans le cerveau

Les rapports $\frac{(IR/IT)_R}{(IR/IT)_L}$ dans les

différentes régions montrent que
l'incorporation dans la région
diencéphalique est faite au détri-
ment des autres régions où ce rap-
port est inversé (plus petit que 1)

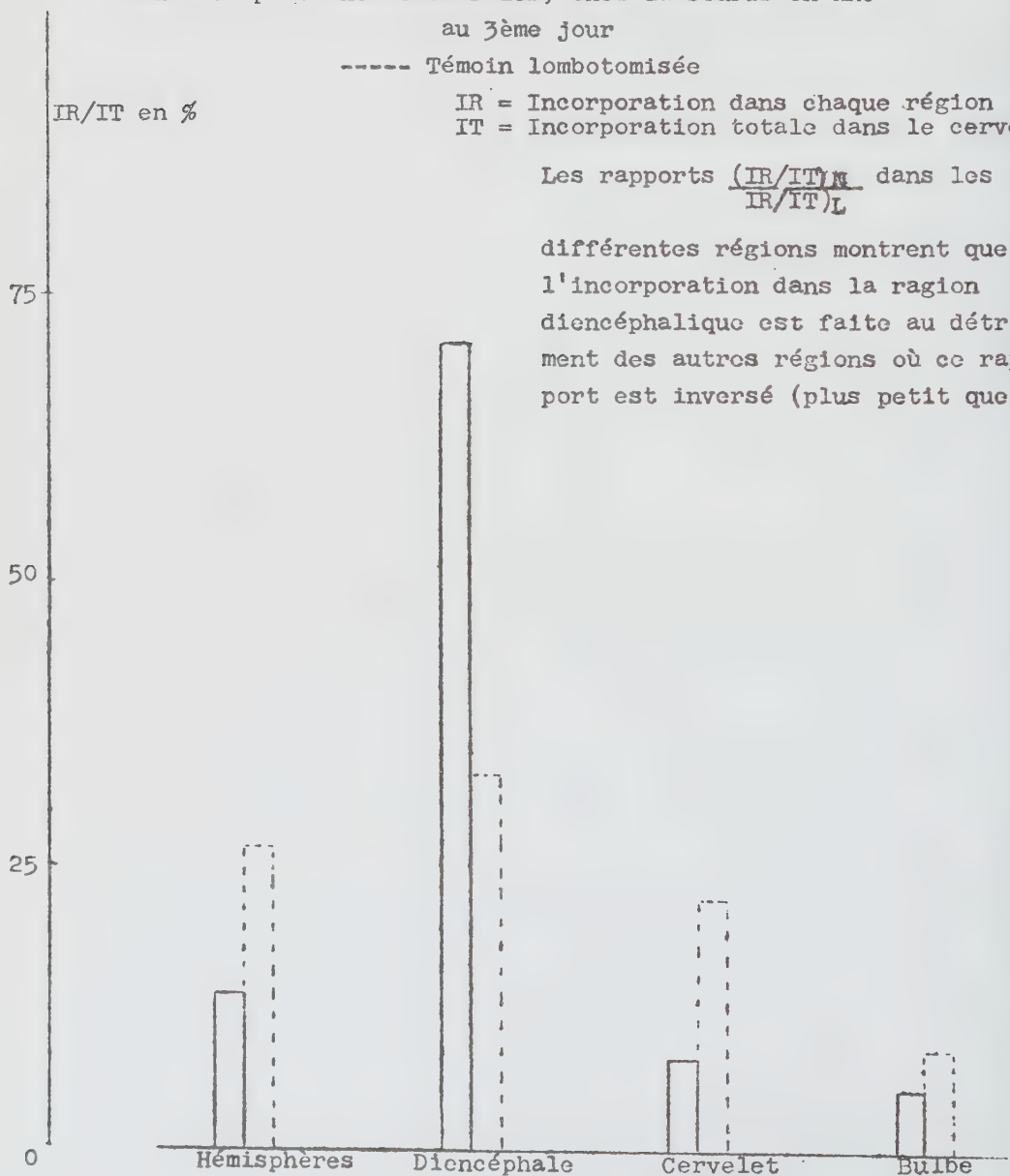


Fig. 29

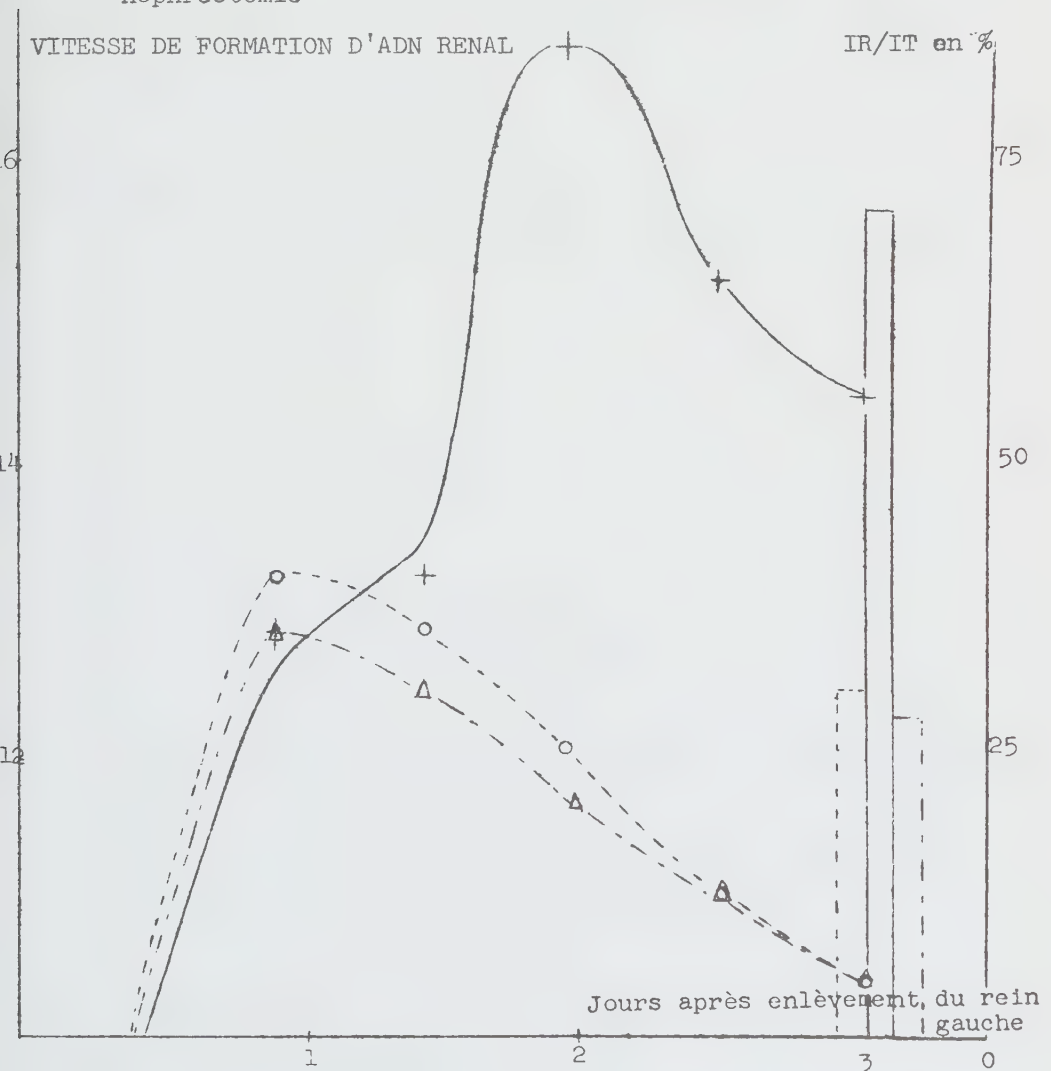
Corrélation chez la souris en HRC

ENTRE L'INCORPORATION D'ACIDE GLUTAMIQUE C-14 DANS LE DIEN-
CEPAHLE ET LA VITESSE DE FORMATION D'ADN RENAL

(+)-souris en HRC

(o)---souris en HRC ayant reçu de la réserpine au moment de la
néphrectomie

()---souris en HRC ayant reçu de la réserpine 48 h. avant la
néphrectomie



CHAPITRE VII

ACTION DE LA RESERPINE EN HRC

On sait que la concentration ou la distribution relative des monoamines (5-hydroxy-tryptamine, la noradrénaline, la dopamine dans le système nerveux central) provoque des phénomènes neurophysiologiques variés. Les mobilisateurs des monoamines (réserpine et les benzoquinolizines) diminuent la concentration des monoamines cérébrales, tandis que les inhibiteurs de la monoamine-oxydase (MAO) augmentent cette concentration. Ces substances ont permis d'effectuer des recherches intéressantes dans le domaine de la neurophysiologie et de la neurochimie (LEUSEN, 1961).

Pour discriminer la néphrectomie de l'HRC, nous allons employer :

- l'épreuve de l'HRC sous réserpine, d'une part
- l'épreuve de la ligature de l'uretère du rein gauche, d'autre part.

Parmi les effets d'origine nerveuse centrale provoqués par la réserpine, il faut signaler comme le plus marquant l'état caractéristique décrit comme un isolement du monde extérieur (BEIN 1956, SCHNEIDER J.A. 1957). Cette réaction est traduite chez certains animaux par la perte de toute agressivité. On n'observe dans ces conditions aucun effet d'analgésie ou d'anesthésie, aucune inhibition des effets d'origine électrophysiologique (CHEN 1954, TRIPOD 1957).

La réserpine mobilise les monoamines en modifiant le métabolisme de l'acide gamma-amino-butyrique, pivot central du métabolisme cérébral, substance inhibant la transmission au niveau des synapses axo-dentitriques du système nerveux central.(BALZER 1961).

Nous utilisons la réserpine en raison de 5 gammas/g de souris, soit pour une souris de 37 g, 0,5 ml de la solution à 37 mg % dans du soluté isotonique de Na Cl à 9 ‰, en injection intrapéritonéale lors de la néphrectomie ou de la lombotomie.

Nous exprimons les résultats des dosages d'ADN rénal en augmentations différentielles par rapport au temps de 12 heures, le dosage relatif au rein droit étant rapporté au dosage relatif au rein gauche, ceci en comparaison avec le rapport témoin, calculé sur l'animal lombotomisé.

Le tableau 11 et la Fig. 29 montrent que l'évolution de l'ADN rénal chez l'animal néphrectomisé soumis à la réserpine n'a pratiquement pas changé avant 1 jour. Après un jour, la vitesse de formation d'ADN décroît. Si l'on rapproche l'action de la réserpine sur le métabolisme cérébral dans l'HRC, on est obligé d'accepter que l'évolution d'ADN de jour 0 au jour 1 échappe au contrôle du système nerveux central et qu'elle ne peut dépendre que d'un mécanisme de régulation locale.

Examinons au 3^e jour le rapport de l'incorporation d'acide glutamique radioactif C-14 et le rapport des vitesses de formation d'ADN- Tableau 11 et fig. 29.

Il y a parallélisme entre le métabolisme cérébral de la région diencéphalique et la synthèse d'ADN rénal en HRC.

Injection de réserpine 48 heures avant néphrectomie :

Nous avons été intrigués de constater que la courbe d'évolution d'ADN rénal chez les animaux en HRC sous réserpine n'était pas modifiée avant 1 jour.

La réserpine avait-elle pu agir avant ce laps de temps ? Nous avons repris la même expérience mais en injectant aux animaux de la réserpine 48 heures avant la néphrectomie et la lombotomie témoin.

Les résultats n'ont pratiquement pas changé , et l'on peut interpréter les phénomènes de la manière suivante :

- la réserpine agit du jour 0 au jour 1
- dans cet intervalle de temps, l'HRC ne dépend pas du métabolisme cérébral
- à partir du jour 1, l'HRC dépend du métabolisme cérébral.

TABLERAU n° 11 (reporté dans la Fig. 29)

Corrélation chez la souris en HRC, entre l'incorporation d'acide glutamique C-14 dans le diencéphale et la vitesse de formation d'ADN rénal.

J	:	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
ris en HRC (voir	:							
leau 6) :	:							
C) _t /d(HC) _{0,5}	:		1	1,128	1,132	1,168	1,152	1,144
	:							
ris en HRC + ré-	:							
pine à la néphrec-	:							
ie :	:							
HC	:	100	102	104,264	106,520	108,760	110,980	113,188
dHC	:	0	2	2,264	2,256	2,240	2,220	2,208
C) _t /d(HC) _{0,5}	:		1	1,132	1,128	1,120	1,110	1,104
	:							
ris en HRC + ré-	:							
pine 48 h avant la	:							
néphrectomie	:							
HC	:	100	102	104,256	106,504	108,736	110,956	113,164
dHC	:	0	2	2,256	2,248	2,232	2,220	2,208
C) _t /d(HC) _{0,5}	:		1	1,128	1,124	1,116	1,110	1,104
	:							

Légende :

HRC = Hypertrophie rénale compensatrice.

ADN = Acide désoxyribonucléique

J = Jours après enlèvement du rein gauche

HC = Quotient en pour cent du rapport H/L

H = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal néphrectomisé.

L = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal lombotomisé.

dHC = Variation différentielle des valeurs HC par 0,5 jour.

C)_t/d(HC)_{0,5} = Variation différentielle dHC à chaque instant rapportée à dHC du jour 0,5.

SUITE DU TABLEAU 11 (reporté dans Fig 29 et 42)

Incorporation d'acide glutamique C-14 dans les protéines
cérébrales de la région diencéphalique chez la souris.

Libellés	D coups/mn, Mp déduit	Les autres régions du cerveau	IT	IR/IT %
HRC + C	130	42	172	75
HRC + lp	133	42	175	76
lu	26	44	70	37,5
HRC	123	53	176	71,5
L	25	51	76	33,2

Légende :

HRC = en Hypertrophie rénale compensatrice

L = lombotomisée

HRC + C = en HRC ayant reçu de l'extrait de cerveau de
souris isologue en HRC.

HRC + lp = en HRC ayant 1 ligature partielle au pédicule
rénal droit

lu = ayant 1 ligature totale à l'uretère gauche

D = Diencéphale

IT = Incorporation totale (dans les protéines du cerveau)

IR = Incorporation régionale (en l'occurrence dans le
Diencéphale).

CHAPITRE VIII

RESULTATS DES ANALYSES IMMUNOELECTROPHORETIQUES

a/ Une première analyse électrophorétique en gélose, à pH 8,2, sous 40 volts, pendant 80 minutes ne révèle que 5 fractions protéiques dans les sérum de souris en HRC à 30 jours, identiques d'ailleurs à 5 fractions protéiques du sérum de souris isologues normales (Fig. 31). Cette identité se reconnaît par la position relative de ces fractions entre elles et par rapport au point de départ de la migration.

Par convention, nous branchons toujours le côté droit des lames à l'anode, le côté gauche à la cathode. De cette façon, le courant électrique passe de droite à gauche, et le sens de migration est de gauche à droite, car les protéines sont chargées négativement à pH 8,2.

Du fait que la gélose n'est pas une substance absolument neutre, un phénomène secondaire, électro-endosmose, accompagne l'électrophorèse. Il consiste en un mouvement de la totalité du liquide qui imbibe le gel, dans le sens opposé à celui de la migration. Ce mouvement est régulier et n'interfère pas avec les déplacements électrophorétiques relatifs des constituants du mélange étudié. La position d'un constituant à la fin de l'électrophorèse est donc une résultante de son transport électrophorétique et de l'effet d'endosmose. Si les 2 migrations sont égales, on aura l'impression que la substance n'a pas bougé. La Fig. 31 présente à droite du point de départ 4 fractions de mobilité anodique faible, par conséquent ramenées vers la cathode par l'électro

endosmose à la fin de la migration. Notons que la détermination du point de mobilité zéro peut se faire avec une substance électriquement inerte dans les conditions de l'expérience. Par exemple, le lévane de P.M. égal à 150.000 qui se fixe par alcool éthylique à 96° et se colore par le mélange : urée 5 g + CH₂N 20 ml + alcool à 96° 100 ml (URIEL 1958).

b/ La Fig. 32 représente les spectres des analyses immuno-électrophorétiques du sérum des souris en HRC à 30 jours avec l'immun-sérum spécifique anti-SH, et du sérum des souris isologues normales avec l'immun-sérum spécifique anti-SN d'une part, croisé avec l'immun-sérum anti-SH d'autre part.

L'analyse de SN en précipitation avec l'anti-SN montre l'existence dans SN d'un minimum de 10 fractions protéiques.

L'analyse de SH en précipitation avec l'anti-SH montre l'existence dans SH d'un minimum de 11 fractions protéiques, dont 10 sont contenues dans SN et 1 nouvelle.

Cette fraction protéique nouvelle dans le sérum des animaux en HRC est de migration électrophorétique lente et, de ce fait, entraînée par l'électro-endosmose vers la cathode à droite du point de départ. Sa mobilité de diffusion est plus lente que celle des gammas globulines. On peut le considérer comme une gamma-globuline nouvelle ou comme une bêta-2-M classique car sa place correspond à l'une et l'autre proposition.

La Figure 33 montre les résultats de précipitation

P.M. = Poids Moléculaire.

en gélose selon la microtechnique dérivée de celle d'Ouchterlony (1949) précédemment décrite au chapitre IX, 1ère partie.

L'image de gauche montre la précipitation de l'immun-sérum anti-RN avec son antigène spécifique RN employé pur, et dilué au 1/2, 1/4, 1/6, 1/8, 1/10. On note la précipitation maximale avec de l'antigène non dilué révélant 3 fractions protéiques, et une précipitation partielle jusqu'à la dilution au 8è.

L'image droite montre qu'il n'y a aucune précipitation des 11 fractions protéiques sériques, déjà vues plus haut entre SH et l'immun-sérum anti-RH, et ce, à n'importe quelle dilution : pur, dilué jusqu'au 10°, d'où spécificité de l'immun-sérum anti-RH. On peut affirmer qu'aucune de ces 5 fractions protéiques intra-cellulaires rénales dans RH déjà vues précédemment n'est commune avec les 11 fractions protéiques sériques en question.

d/ La Fig. 34 présente les résultats de précipitation de RN et RH avec anti-RN d'une part, puis avant, anti-RH d'autre part.

L'image de gauche identifie un minimum de 3 fractions protéiques communes aux 2 antigènes RN et RH. L'image de droite révèle ces mêmes fractions I, II, III, plus 2 fractions nouvelles IV et V.

e/ La Fig. 35 montre les résultats des analyses immuno-électrophorétiques des protéines intra-cellulaires rénales :

- RH des souris C57 RCH en HRC au 30è jour contre l'immun-sérum spécifique anti-RH.
- RN des souris isologues normales croisées avec l'anti RH.

Ces analyses montrent que le rein normal contient un minimum de 4 fractions protéiques : a, a', b, c. Le rein en HC contient aussi ces 4 fractions, plus au moins une fraction nouvelle à mobilité électrophorétique moyenne entre (a) et (c), égale à (b), soit la fraction (x) que l'on découvre trois fois dans les 3 spectres du haut de la Fig. 33.

Il faut noter en plus que la fraction (a') en faible proportion dans le rein normal, augmente en quantité dans le rein en HRC sans changer de structure car ses positions de migration d'électrophorèse et de diffusion restent inchangées.

Si l'on compare les résultats récapitulés dans la Fig. 34 et la Fig. 35, on pourrait reconnaître en IV la fraction a', non révélée en micro-ouchterlony, en raison de sa trop faible proportion dans RN. La fraction V à faible mobilité de diffusion se reconnaît par élimination comme étant la fraction (x).

Enfin, la fraction (a') est différente de la fraction (a) par 2 motifs antigéniques différents, au minimum.

Notes : Exemples de lecture des lames d'immuno-électrophorèse (Fig. 36).

Pour l'interprétation des lames d'immuno-électrophorèse, on se basera sur les 4 schémas de précipitation types

suivants : (A) et (B) étant les antigènes séparés par migration électrophorétique : m, n, o, p étant les anticorps correspondants aux motifs antigéniques M, N, O, P que peuvent porter les antigènes (A) et (B). L'exemple de lecture de la lame "précipitation type III" fera comprendre les lames des autres types. Par convention, nous désignons :

(B) MX = antigène (B)

porteur du motif antigénique révélé M (représentation en gris)

et porteur du motif non révélé X (représentation en noir)

Lame du type III : de la diffusion (m + n), seulement m est arrêté par BMX venant de B, l'anticorps n non fixé traverse la frontière y pour se fixer plus loin dans le prolongement de la ligne de précipitation.

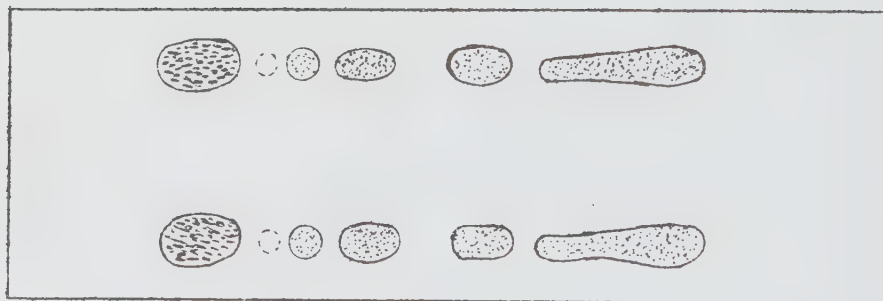
Fig. 31

ELECTROPHORESE EN GELOSE A pH 8,2

SH = sérums de souris C57 RCH en HRC à 30 jours

SN = sérums de souris C57 RCH normales

Migration sous 40v. pendant 80mm



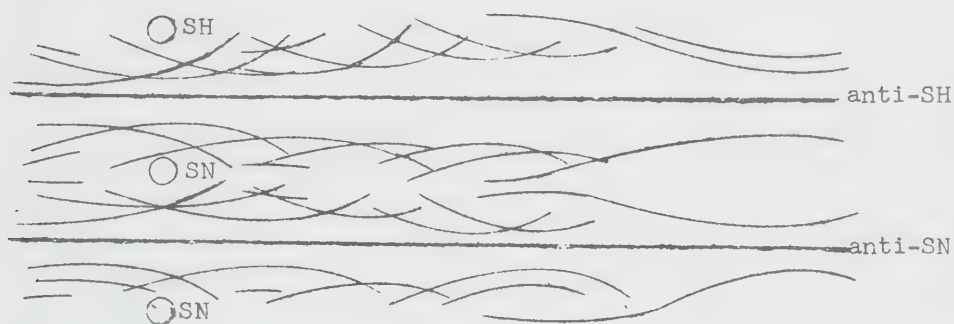


Fig. 32

IMMUNO-ELECTROPHORESE

des sérums de souris en HRC à 30 jours avec l'anti-SH
et des sérums de souris normales avec l'anti-SN, avec l'anti-SH

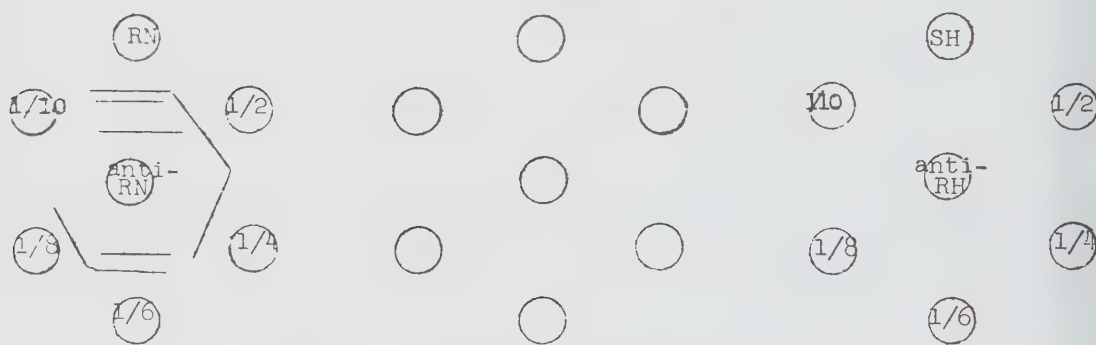


Fig. 33 - MICROOUCHTERLONY

sans dilution = précipitation maximale.
précipitation partielle jusqu'à la
dilution au 8ème

pas de précipitation à
n'importe quelle dilution
de l'antigène pur jus-
qu'au 10ème

SPECIFICITE DES IMMUN-SERUMS ANTI-PROTEINES RENALES

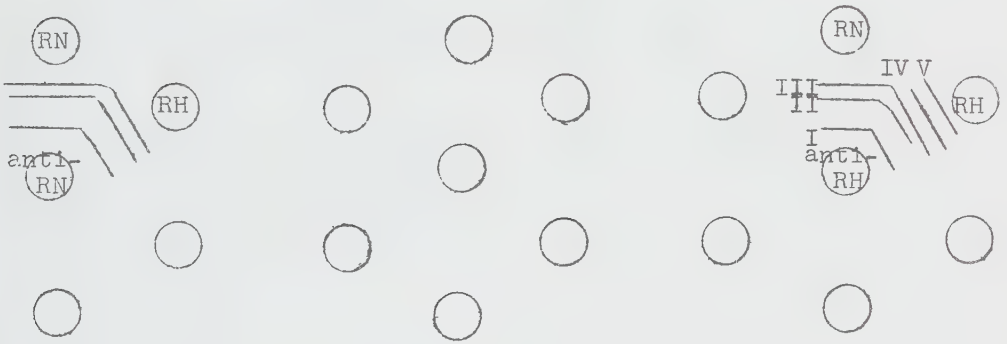


Fig. 34

RH CONTRE ANTI-RH CROISE AVEC RN

montre l'existence de 2 fraction nouvelles parmi les 5
fractions protéiques rénales, chez la souris en HRC à

30 jours

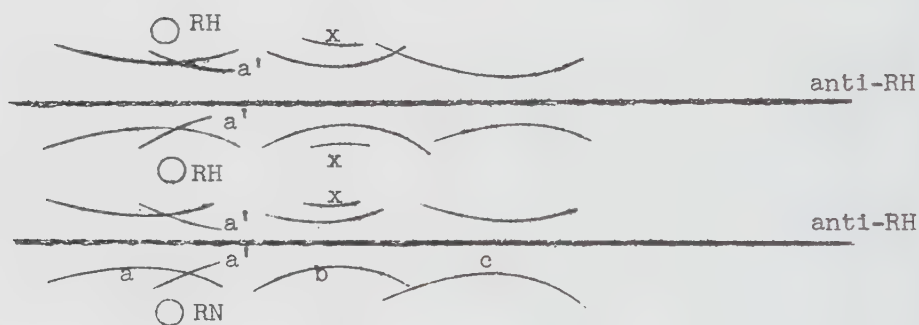


Fig. 35

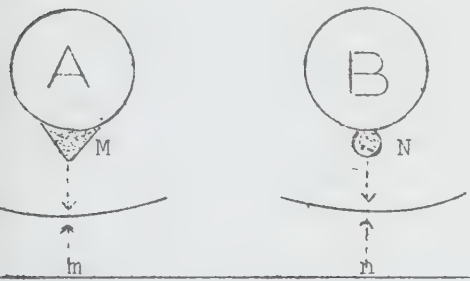
IMMUNO-ELECTROPHORESE DES PROTEINES RENALES

RH de souris en HRC à 30 jours contre l'anti-RH croisé
avec RN protéines rénales de souris normales

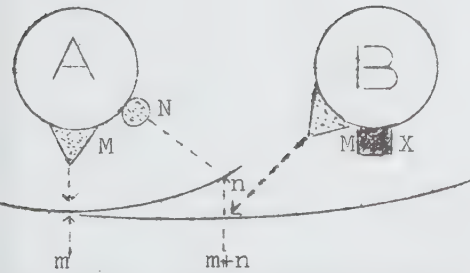
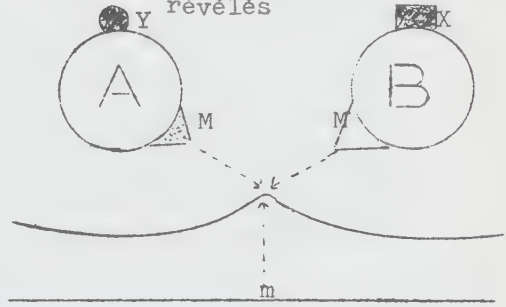
Fig. 36

EXEMPLES DE LECTURE DES LAMES D'IMMUNO-ELECTROPHORESE

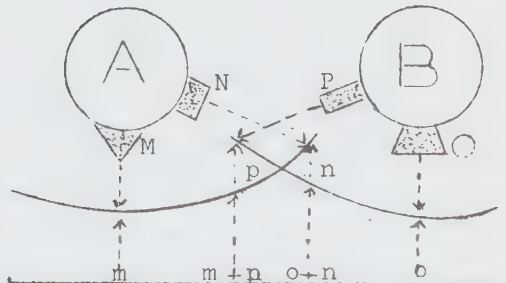
Type I : $(A)_M$ et $(B)_N$ possèdent
2 motifs antigéniques
différents



Type II : $(A)_{MY}$ et $(B)_{MX}$ possèdent
1 motif commun antigéni-
que
2 motifs différents non
révélés



Type III : $(A)_{MN}$ et $(B)_{MX}$ possèdent
1 motif commun antigénique
2 motifs différents dont 1 anti-
génique, l'autre non révélé



Type IV : $(A)_{MN}$ et $(B)_{OP}$ possèdent
2 fois 2 motifs antigéniques
différents

CHAPITRE IX

ACTION DE LA LIGATURE DE L'URETERE DU REIN GAUCHE ET DE LA LIGATURE PARTIELLE DU PEDICULE RENAL DU REIN DROIT EN HRC.

a/ Pour discriminer la néphrectomie de l'HRC, nous avons employé la réserpine comme mobilisateur des monoamines du système nerveux central, inhibiteur du métabolisme cérébral et abaissant, de ce fait, la synthèse d'ADN rénal (3ème partie, chapitre VII). Nous avons vu que l'HRC dépend de l'activité de la région diencephalique.

Une contre-épreuve peut se proposer : c'est la ligature de l'uretère du rein gauche, ce qui correspond à une suppression du fonctionnement rénal. La technique de ligature a été décrite dans la 2ème partie, chapitre X.

Nous dosons l'eau, l'ARN, l'ADN du rein droit hypertrophié. Ces chiffres sont rapportés à ceux du rein gauche homologue. Ces chiffres sont enfin comparés aux chiffres venant des animaux lombotomisés. Les résultats s'expriment en augmentations différentielles de 12 heures. Le tableau 12 et la Fig. 37 montrent l'évolution de l'eau dans le rein droit après ligature de l'uretère du rein gauche. Il n'y a en effet aucune différence avec le rein des animaux néphrectomisés et des animaux dont seul l'uretère du rein gauche est ligaturé.

Le tableau 12 et la Fig. 38 montrent qu'il y a hypertrophie cytoplasmique du rein droit à 1 jour, en cas de ligature de l'uretère du rein gauche; mais la vitesse de cette hypertrophie est pratiquement stationnaire. Le tableau 12 et la Fig. 39 montrent que, simultanément, il y a hyperplasie nucléaire à 1 jour, mais le processus au lieu de s'accroître, comme en cas d'HRC, ou de rester stationnaire, comme l'hypertrophie cytoplasmique mentionnée précédemment, diminue très rapidement pour retomber déjà au 2ème jour à une valeur voisine de celle de départ.

En cas de ligature de l'uretère du rein gauche, il y a un mouvement d'eau rénale comparable à celui déjà vu en HRC. Il y a augmentation d'hypertrophie cytoplasmique, mais dans une mesure moindre. Il y a hyperplasie nucléaire à 1 jour, mais la vitesse de synthèse d'ADN baisse rapidement. Tout se passe comme si le fait de ligaturer l'uretère du rein gauche détermine une HRC vraie, mais éphémère, à commande locale; il n'y a pas d'étape de transition et du relais de commande comme nous avons déjà parlé dans la 2ème partie, chapitre VII;

b/ Nous avons décrit dans la 1ère partie, chapitre X, la technique de ligature du pédicule rénal du rein en HRC. Il est à noter que notre intention est d'obtenir une réduction du débit sanguin rénal et non l'hypertension comme dans la technique originale de GOLDBLATT (1949), qui décrit la ligature partielle de l'artère rénale seule.

La courbe de vitesse de formation d'ARN du rein en HC, en cas de ligature partielle de son pédicule rénal, se rapproche avec la courbe d'ARN en HRC que nous avons déjà

envisagée (Tableau 13 et Fig. 40), mais avec une vitesse moindre. Elle augmente à 1 jour, puis après une faible augmentation supplémentaire entre 1 jour et 1 jour 1/2, elle reste stationnaire jusqu'au 3^e jour, en accusant une légère baisse.

La courbe de vitesse de formation d'ADN présente en cas de ligature partielle du pédicule rénal une valeur très légèrement inférieure au 2^e jour, mais son allure est pratiquement inchangée par ailleurs (Tableau 13 et Fig. 41).

Nous pouvons conclure à une baisse d'hypertrophie cytoplasmique en HRC lorsque le pédicule rénal est partiellement ligaturé, à partir du 1^{er} jour et jusqu'au 3^e jour. Tout se passe comme si les matériaux biochimiques nécessaires à l'hypertrophie cytoplasmique se trouvaient sur place et qu'ils étaient consommés dès le 1^{er} jour. A partir de ce moment, une diminution d'apport sanguin diminue l'hypertrophie cytoplasmique, révélant ainsi sa dépendance du ravitaillement sanguin. Pouvons-nous reconnaître en cela la diminution de l'hypertrophie cytoplasmique, déjà décrite en cas de jeûne protéique (MANDEL 1950) ? Et il est à remarquer que notre expérience s'effectue à très brève échéance, 3 jours contre 30 jours dans le cas des observations de jeûne protéique.

c/ Nous avons finalement déterminé le taux d'incorporation d'acide glutamique radioactif C-14 chez des souris soumises aux conditions suivantes :

1/ En HRC, avec réception d'une injection de cerveau d'animaux isologues en HRC, ce qui correspond à une greffe

isologue, envisagée dans la 2ème partie, chapitre V. Cette injection est suivie d'une augmentation d'ADN rénal. Son action est-elle directe sur le parenchyme rénal ? Ou est-elle en interférence avec le métabolisme cérébral ? Cette alternative sera discutée ultérieurement.

2/ En HRC, avec le pédicule rénal du rein en HRC partiellement ligaturé.

3/ Non néphrectomisé, avec simplement une ligature à l'uretère gauche.

Nous extrayons et comptons l'acide glutamique radio-actif C-14 incorporé dans la région diencéphalique, ce comptage étant rapporté au comptage de l'incorporation dans les protéines totales du cerveau, en %, comme déjà décrit dans la troisième partie, chapitre VI.

Le tableau 11 et la Fig. 42 récapitulent ces résultats en comparaison avec l'incorporation de l'acide glutamique radioactif C-14 chez les animaux en HRC et simplement lombotomisés.

Les animaux en HRC ayant reçu du cerveau des animaux isologues en voie d'HRC présentent le même taux d'incorporation d'acide glutamique radioactif C-14 dans les protéines cérébrales de la région diencéphalique que chez les animaux en HRC. Comme cet extrait augmente le taux d'ADN en HRC, (3è partie, chapitre V) et qu'il est sans influence sur l'incorporation d'acide glutamique dans les protéines cérébrales, il y a lieu de penser que son action sur le parenchyme rénal est directe.

Les animaux en HRC ayant leur pédicule rénal partiellement ligaturé présentent un taux d'incorporation très légèrement plus faible probablement dû à une baisse de l'hyperthrophie cytoplasmique envisagée précédemment, et qui est pratiquement inchangée par rapport à la valeur trouvée chez les animaux en HRC. Nous sommes en mesure de penser que la diminution du débit sanguin rénal n'influe en rien au processus mitotique qu'une autre influence détermine.

Les animaux non néphrectomisés, ayant simplement l'uretère du rein gauche ligaturé, présentent une incorporation d'acide glutamique radioactif C-14 dans les protéines cérébrales de la région diencephalique, peu différente de la valeur notée chez les animaux lombotomisés. Ceci montre que la ligature urétérale ne modifie pratiquement pas le métabolisme cérébral de la région diencephalique.

Note : La pratique de la ligature du pédicule du rein gauche, non suivie de néphrectomie, est une expérience inexploitable, à cause de la grande mortalité, due à la lyse du tissu rénal non vascularisé et à des causes d'infections internes. Les résultats sont d'autre part ininterprétables.

TABLEAU N° 12 (reporté dans les Fig. 37, 38, 39)

Modification de la vitesse de formation d'ADN, d'ARN, d'eau du rein droit, après ligature totale de l'uretère du rein gauche.

J	:	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
<u>Vitesse de formation</u>	:							
<u>d'ADN :</u>	:							
HC	:	100	102	102,242	104,464	106,668	108,876	111,080
dHC	:	0	2	2,242	2,222	2,204	2,208	2,204
$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$	:		1	1,121	1,111	1,102	1,104	1,102
<u>Vitesse de formation</u>	:							
<u>d'ARN :</u>	:	100						
HC	:	100	103	106,420	109,846	113,254	116,668	120,082
dHC	:	0	3	3,420	3,426	3,408	3,414	3,414
$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$	:		1	1,140	1,142	1,136	1,138	1,138
<u>Vitesse de formation</u>	:							
<u>d'eau</u>	:							
HC	:	100	103	106,414	109,918	114,413	117,887	121,331
dHC	:	0	3	3,414	3,504	3,495	3,474	3,444
$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$	:		1	1,138	1,168	1,165	1,158	1,148

Légende :

J = Jour après ligature totale du rein gauche.

HC = Quotient en pour cent du rapport H/L.

H = ADN (ou ARN ou eau) du rein droit sur ADN (ou ARN ou eau) du rein gauche qu'on enlève au moment du sacrifice, chez l'animal ayant l'uretère totalement ligaturée.

L = ADN (ou ARN ou eau) du rein droit sur ADN (ou ARN ou eau) du rein gauche, chez l'animal lombotomisé.

dHC = Variation différentielle des valeur HC par 0,5 jour.

$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$ = Variation différentielle dHC à chaque instant rapportée à dHC du jour 0,5.

Fig. 37

MODIFICATION DE LA VITESSE DE FORMATION D'EAU RENALE DU Rd
après ligature totale de l'uretère du rein gauche

----- Témoins néphrectomisés

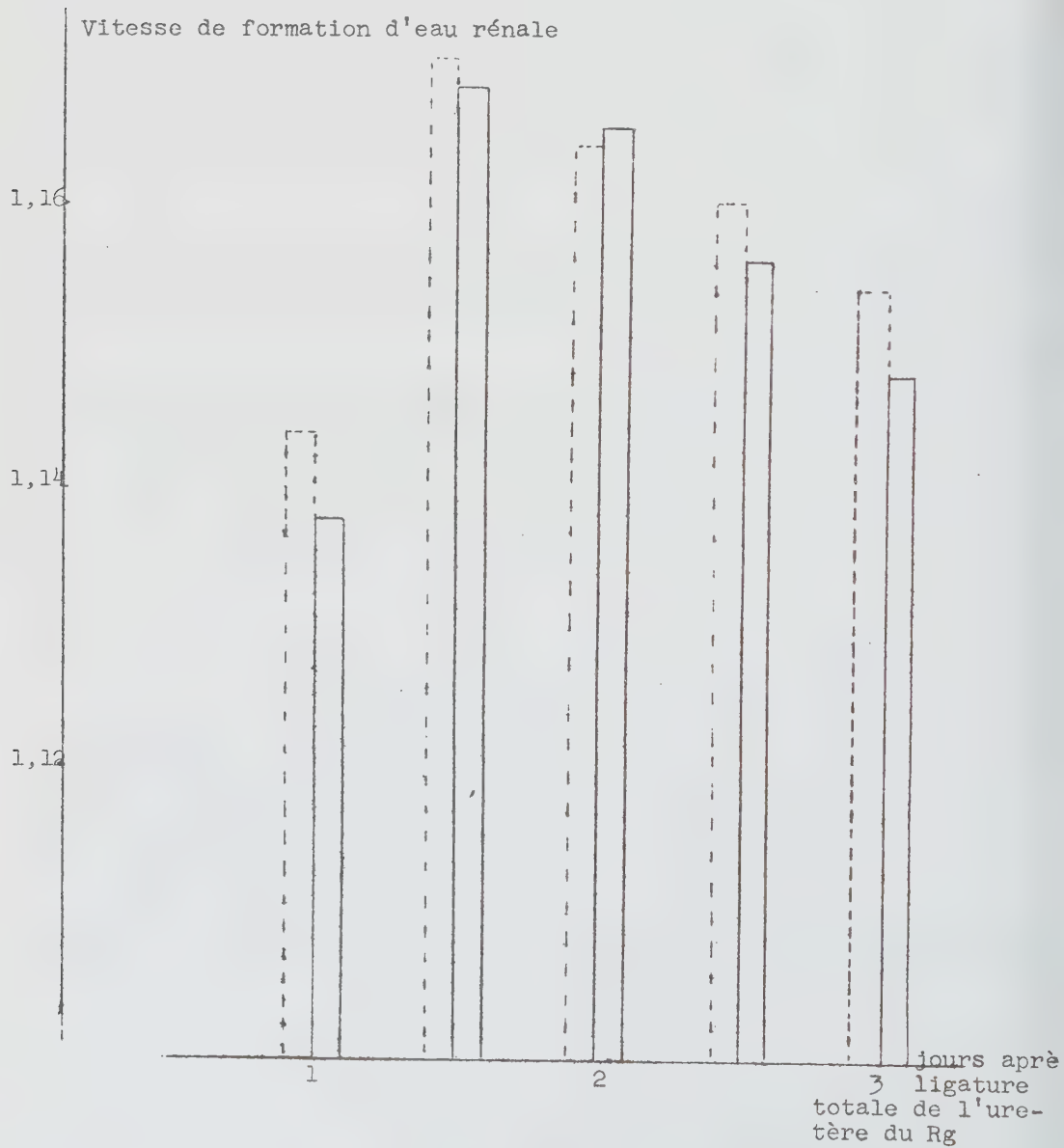


Fig. 38

MODIFICATION DE LA VITESSE DE FORMATION D'ARN RENAL DU Rd

après ligature totale de l'uretère
du rein gauche

----- Témoins néphrectomisés

Vitesse de formation d'ARN rénal

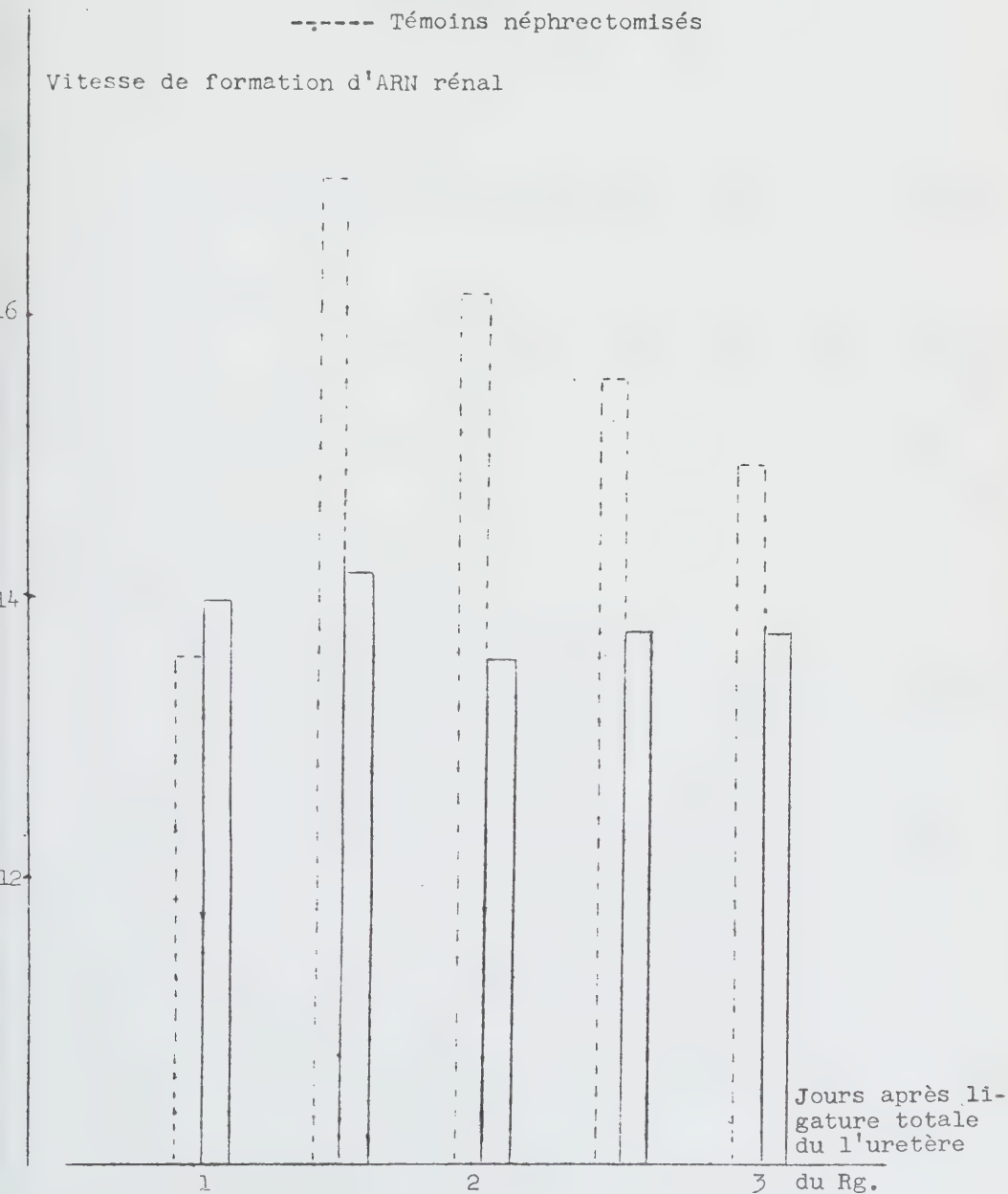
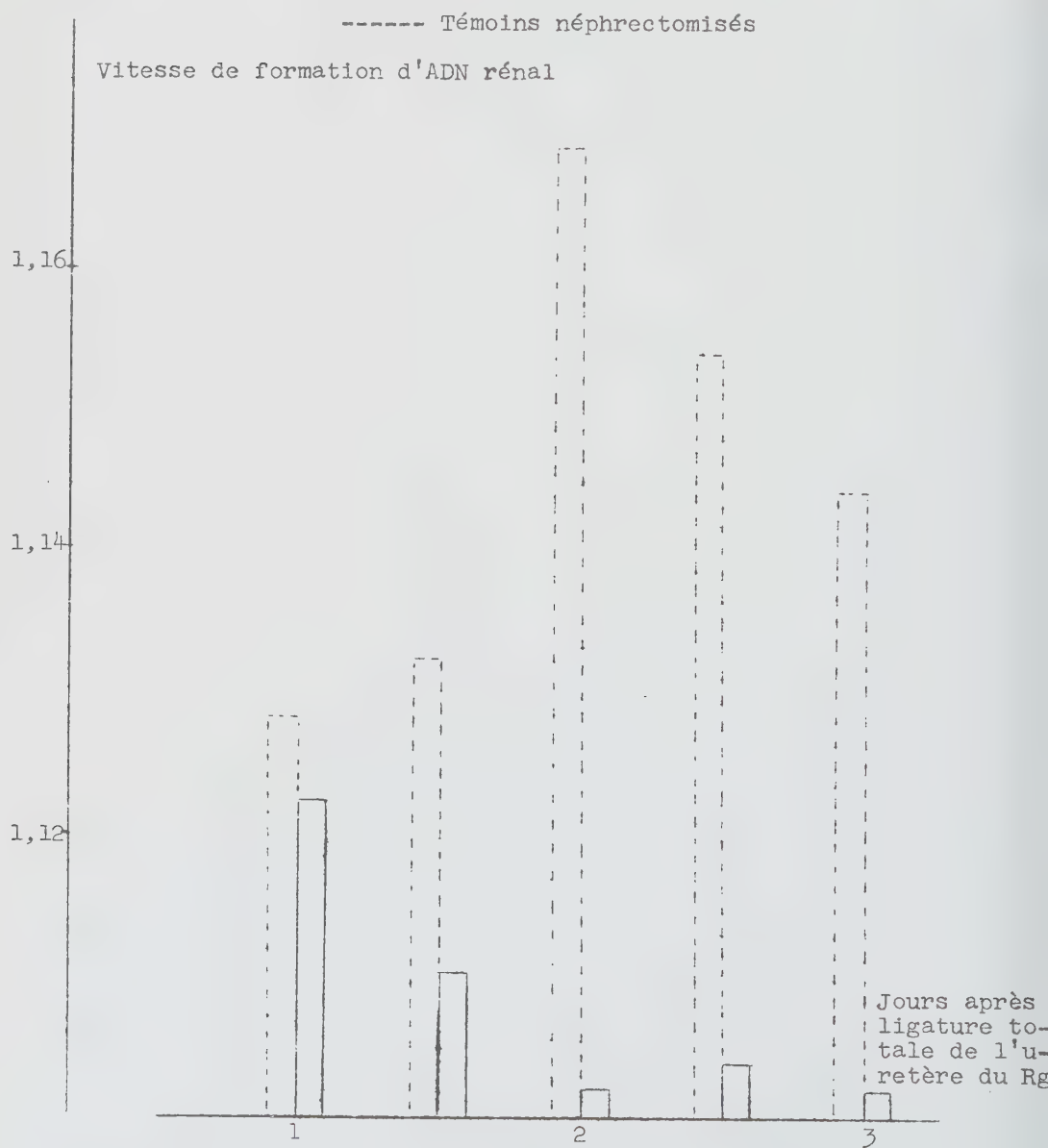


Fig. 39

MODIFICATION DE LA VITESSE DE FORMATION D'ADN RENAL DU Rd
après ligature totale de l'uretère du rein gauche



TABEAU N° 13 (reporté dans les Fig. 40 et 41)

Modification de la vitesse de formation d'ADN et d'ARN du rein droit au 3ème jour après enlèvement du rein gauche et ligature partielle du pédicule rénal du rein restant.

J	:	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
<u>vitesse de formation</u>	:							
<u>ADN</u>	:							
HC	:	100	102	104,256	106,532	108,852	111,152	113,444
dHC	:	0	2	2,256	2,276	2,320	2,300	2,292
$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$	:		1	1,128	1,138	1,160	1,150	1,146
<u>vitesse de formation</u>	:							
<u>ARN</u>	:							
HC	:	100	103	106,396	109,834	113,260	116,686	120,106
dHC	:	0	3	3,396	3,438	3,426	3,426	3,420
$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$	:		1	1,132	1,146	1,142	1,142	1,140

Légende :

J = Jours après enlèvement du rein gauche

HC = Quotient en pour cent du rapport H/L

H = ADN (ou ARN) du rein droit sur ADN (ou ARN) du rein gauche, chez l'animal néphrectomisé.

L = ADN (ou ARN) du rein droit sur ADN (ou ARN) du rein gauche, chez l'animal lombotomisé.

dHC = Variation différentielle des valeurs HC par 0,5 jour.

$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$ = Variation différentielle dHC à chaque instant rapportée à dHC du jour 0,5.

Fig. 40

MODIFICATION DE LA VITESSE DE FORMATION D'ARN RENAL DU Rd
après ligature partielle du pédicule rénal, chez la souris né-
phrectomisée

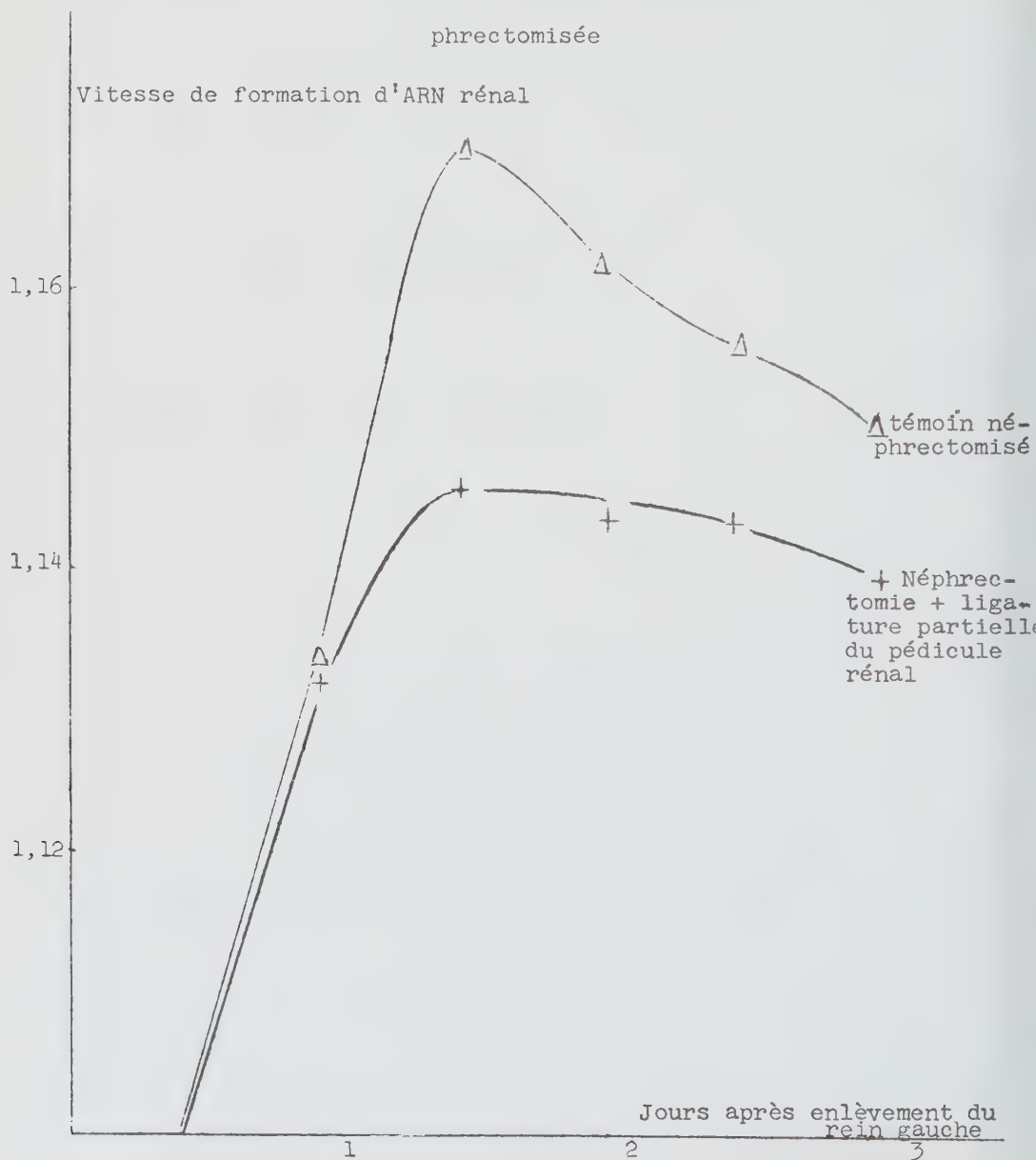


Fig. 41

MODIFICATION DE LA VITESSE DE FORMATION D'ADN RENAL DU Rd
après ligature partielle du pédicule rénal, chez la souris néphrec-
tomisée

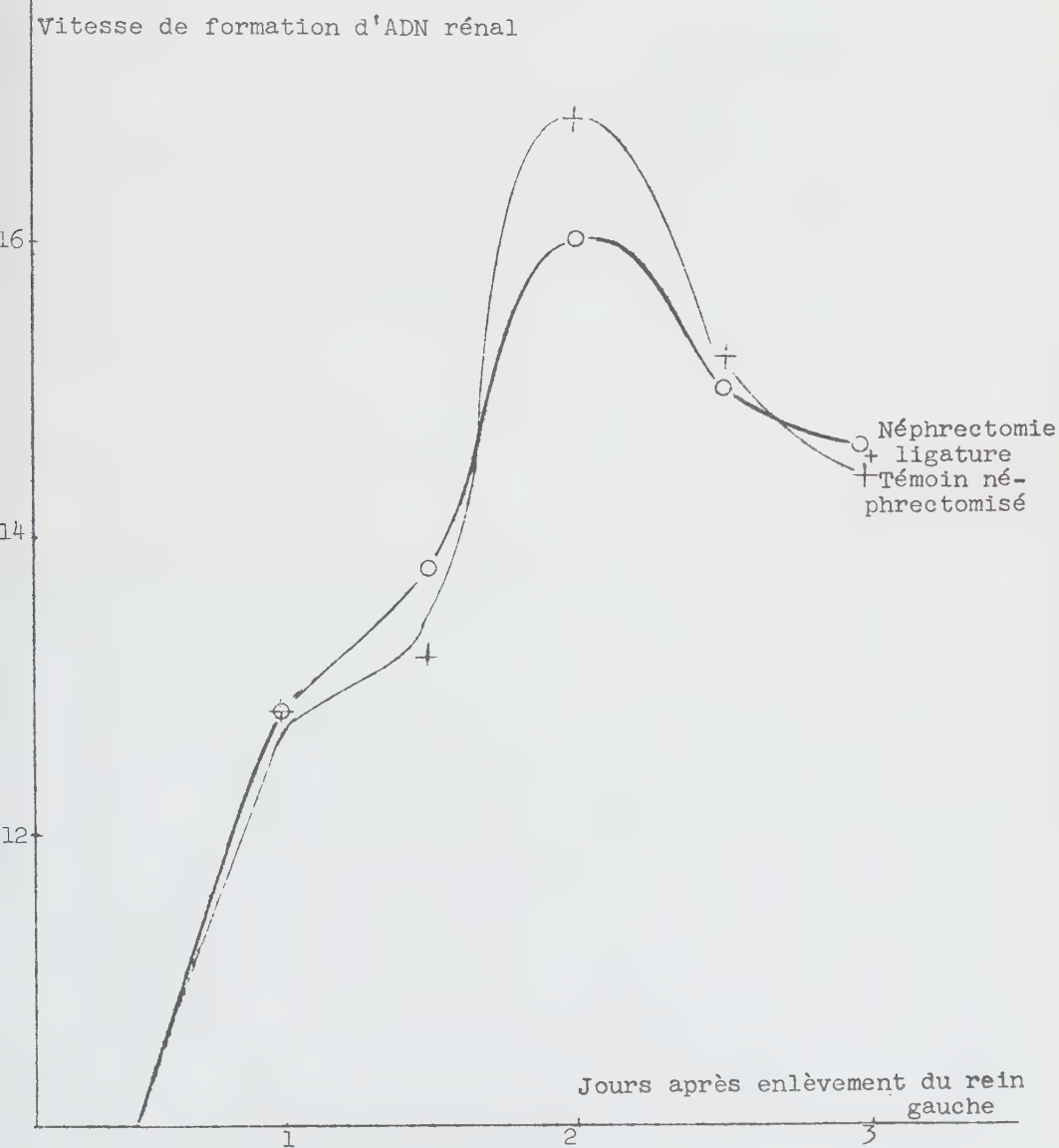
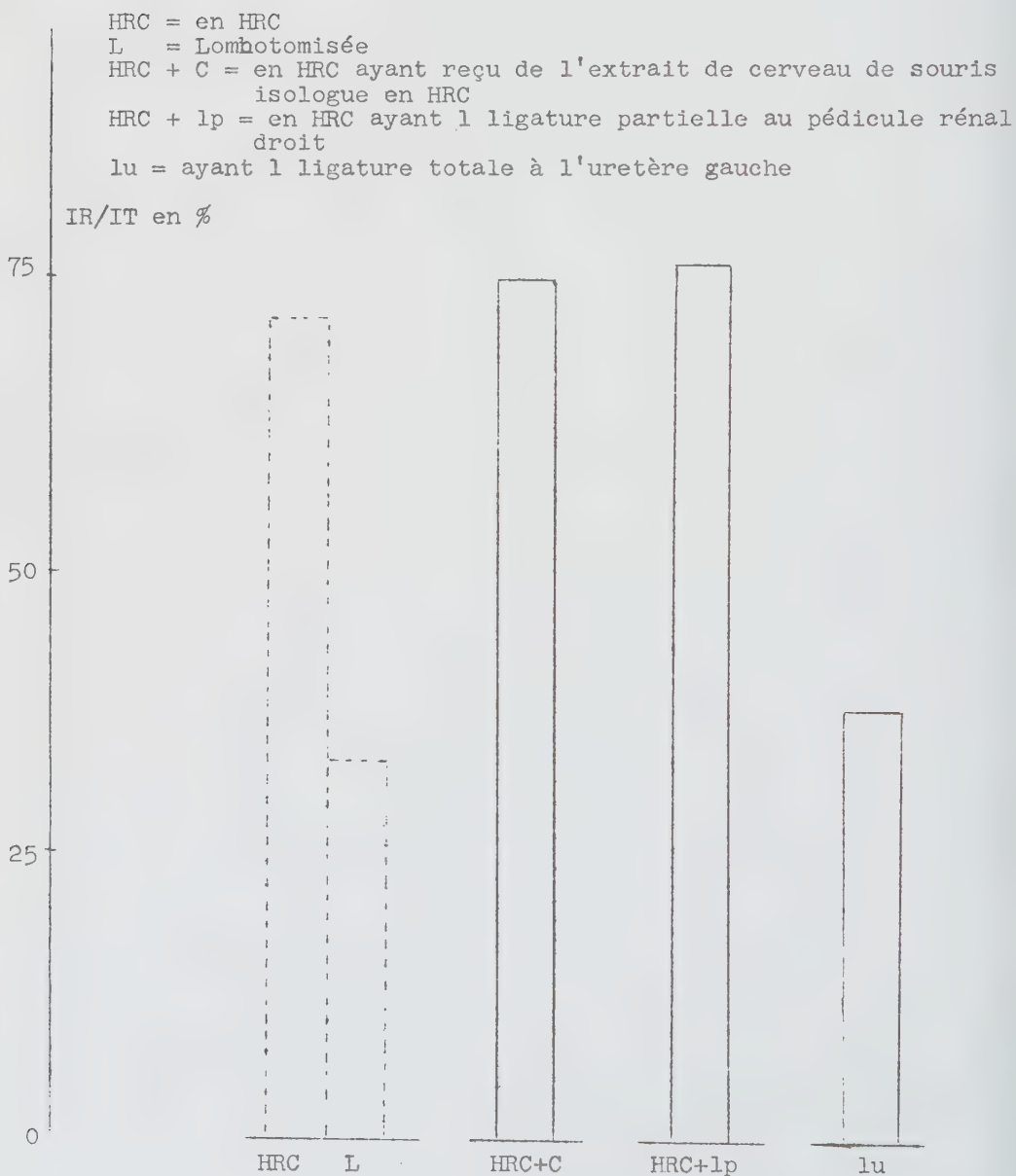


Fig. 42

INCORPORATION D'ACIDE GLUTAMIQUE C-14

dans les protéines cérébrales de la région diencéphalique
chez la souris



CHAPITRE X

RECHERCHE DU FACTEUR INFORMATEUR DE L'HRC

I - ACTION DE LA DÉCAPSULATION DU REIN HYPERTROPHIE

Nous avons pu modifier la vitesse de formation d'ADN du rein hypertrophié en le décapsulant lors de la néphrectomie. Le tableau n° 14 et la Fig. 43 montrent que cette vitesse augmente d'une manière régulière jusqu'au 2^e jour sans accuser un point d'inflexion entre 1 jour 1/2 et 2 jours, et elle ne diminue pas à 3 jours comme celle du rein hypertrophié non décapsulé.

Ces vitesses de formation d'ADN rénal peuvent être comparées de la manière suivante :

Pour la courbe Néphrectomie (N) :

- au jour 0, le rapport d'ADN du rein droit sur ADN du rein gauche peut s'écrire :

$$D/g$$

- à 3 jours, ce rapport devient : $\frac{D + kD}{g}$

k étant la constante d'HRC à 3 jours.

L'HRC (N) peut être exprimée par la comparaison de ces rapports, soit :

$$\frac{\frac{D + kD}{g}}{\frac{D}{g}} = \frac{D + kD}{D} = 1 + k$$

et on voit très bien que si k est égal à zéro, il n'y a pas d'HRC; s'il est positif, il y a HRC.

Pour 1. courbe Néphrectomie et Décapsulation (ND) :

- Au jour 0, le rapport d'ADN du rein droit sur ADN du rein gauche peut s'écrire D/g aux erreurs près.

- A 3 jours, ce rapport devient : $\frac{D + fD}{g}$

f étant la constante d'HRC (ND) à 3 jours. Cette HRC (ND) peut être exprimée par la comparaison de ces rapports, soit:

$$\frac{\frac{D + fD}{g}}{\frac{D}{g}} = \frac{D + fD}{D} = 1 + f$$

et on voit très bien qu'il y a hypertrophie quand f est positif.

Comparons les deux courbes d'HRC :

$$\frac{ND}{N} = \frac{1 + f}{1 + k} \quad (1)$$

Si $f > k$, on voit que $ND > N$, c'est à dire le fait de décapsuler fait augmenter l'HRC.

Les tableaux n° 15 et la Fig. 45 nous donnent les résultats du phénomène qui peut être quantifié expérimentalement au 3^e jour par ces équations :

$$ND = \left(\frac{1 + f}{1 + k} \right) N \quad (1)$$

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{1 + f}{1 + k} = 1,09$$

α étant l'angle que fait la droite ND avec l'axe des abscisses

Pour une décapsulation partielle, en l'occurrence au 1/3 (ND/3), nous obtenons un angle ϕ plus petit que l'angle α (tableau n° 15, Fig. 45).

Remarquons que nous avons repris les calculs après transformation de résultats bruts selon notre mode d'expression de résultats habituels $(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$ (voir tableaux 6, 14, 15).

Ces calculs nous ont permis de vérifier que l'erreur de nos expériences est de l'ordre de $\pm 1\%$. Ceci a été rapporté dans les analyses statistiques de résultats (2ème partie, chapitre I).

Il est inutile de rapporter ces résultats à ceux obtenus sur des témoins lombotomisés (L). En effet, si nous comparons les courbes ND et N avec la courbe L (tableau 6, Fig. 44) on aura : ND/L d'une part et N/L d'autre part.

En faisant le rapport de ces 2 termes, on verra que L s'élimine de la comparaison :

$$\frac{ND/L}{N/L} = \frac{ND}{N} \quad (1)$$

Par cette expérience, nous avons démontré que la décapsulation totale et partielle du rein hypertrophié augmente proportionnellement le nombre de mitoses dans le rein hypertrophié. Ceci laisse supposer qu'il y a des récepteurs inhibiteurs de mitoses rénales au niveau de la capsule. Pour vérifier cette hypothèse, nous faisons l'expérience de la phénolisation du pédicule rénal du rein hypertrophié.

II - ACTION DE LA PHENOLISATION DU PEDICULE RENAL DU REIN HYPERTROPHIE

Lors de la néphrectomie, nous effectuons au pinceau la phénolisation du pédicule rénal du rein restant avec une solution aqueuse d'acide phénique à 5%. Le badigeonnage doit être précis et fait jusqu'à l'obtention d'une légère pâleur de la région : cette pâleur obtenue, il importe d'essuyer soigneusement le pédicule rénal avec papier cellulosique, afin de ne pas contaminer les autres régions à la fermeture de l'ouverture opératoire.

Les animaux sont sacrifiés le 3^e jour après la néphrectomie et les dosages d'ADN rénal sont exécutés (voir chapitre III, 1^{ère} partie). Les résultats résumés dans le tableau n° 16 et la Fig. 46, montrent qu'il n'y a pas de différence entre l'action de la décapsulation et de la phénolisation.

Nous pouvons conclure : la phénolisation augmente l'HRD. Cette conclusion est à rapprocher des résultats d'hypertrophie du tissu conjonctif rénal obtenu par Maillet (1957) dans ses études sur l'innervation sympathique du rein chez le cobaye.

Ceci rend bien compte des localisations des récepteurs inhibiteurs de croissance rénale au niveau de la capsule, récepteurs que nous pouvons détruire par la décapsulation ou rendre inactifs par phénolisation du pédicule rénal.

On sait que les récepteurs transmettent des messages au système nerveux central au moyen des influx nerveux. Fulton

(1928) a décrit 2 sortes de récepteurs :

1/ Ceux se trouvant en parallèle avec les constituants actifs (exemple : fuseaux musculaires) qui signalent l'augmentation de tension passive.

2/ Ceux "en série" avec les fibres contractiles qui réagissent à la tension sans tenir compte si elle est active ou passive.

On sait que le nerf de Hering, de provenance crânienne, est branché sur les baro et chémo récepteurs de la zone du sinus carotidien, qu'il est le siège d'un train continu d'influx synchrone aux variations de la pression artérielle, que sa section détermine une vasodilatation généralisée, d'où augmentation du débit circulatoire.

Baillet (1955) a décrit l'action des récepteurs sensibles de la paroi alvéolaire informant le cerveau, par les pneumogastriques, de l'état de tension des poumons dont le rythme respiratoire est réglé par un feed back (rétroaction) bien déterminé.

Cette expérience démontre la localisation des récepteurs inhibiteurs de la croissance rénale qui se trouvent sur la capsule même de l'organe.

III - ACTION DES GLOBULINES ANTI-REIN DANS L'HRC

Nous faisons des injections de diverses globulines anti-rein aux souris en HRC. Ces globulines proviennent des immun-sérums anti-protéines.

- 1/ du rein hypertrophié de souris isologues (anti-RH)
- 2/ de rein normal de souris isologues (anti-RN)
- 3/ de rein normal de porc (anti-RNP)

RN et RH, ainsi que leurs immun-sérums, sont préparés comme il fut mentionné dans la 1ère partie, chapitre X.

RNP et son immun-sérum sont préparés de la même manière (1). Il est à noter que l'action biologique d'un sérum anti-rein total diffère de celle de certaines fractions du même immun-sérum : celles-ci privées de leur albumine présentent une action néphrotrope jadis masquée par l'action néphrotoxique provenant de la fraction albuminique de l'immun-sérum total.

Les immun-sérums obtenus sont débarrassés de leurs albumines par précipitation des globulines avec du sulfate d'ammonium à 50 %, suivie de dialyse. Nous enlevons les albumines pour préserver le rein de leur action néphrotoxique (Colette Briot 1961).

Les injections de globulines anti-rein furent faites par voie intra-péritonéale lors de la néphrectomie à la dose de 5 gammas/g de souris, le dosage étant fait par la méthode du biuret selon Ardry (1ère partie, chapitre VIII).

(1) Nous remercions le Centre Biosul, 121 rue de Paris à Bièvres, S & O de nous avoir aidés à réaliser ces préparations.

Les souris furent sacrifiées le 3^e jour après néphrectomie, et les dosages d'ADN rénal furent exécutés (voir chapitre III, 1^{ère} partie).

Les résultats résumés dans le tableau n° 16 et la Fig. 47 montrent que :

- 1 - l'anti-RH freine l'HRC
- 2 - l'anti-RN et l'anti-RNP favorisent l'HRC

Si nous exprimons les résultats comme il a été dit dans les pages précédentes à propos de l'équation générale :

$$ND = \left(\frac{\frac{1}{l} - \frac{f}{k}}{1 + \frac{f}{k}} \right) \cdot N$$

nous allons avoir :

$\text{tg } \alpha < 0$ pour l'HRC de l'anti-RH

$\text{tg } \beta \approx \text{tg } \gamma > 0$ pour l'HRC de l'anti-RH et de l'anti-RNP.

α, β, γ étant les angles que font les droites d'HRC avec l'axe des abscisses qui est la base de comparaison de l'HRC provoquée par la simple néphrectomie, non suivie de traitement globulinique.

Nous interprétons ces expériences de la manière suivante :

Les injections de globulines anti-rein normal isologue (RN) ou hétérologue (RNP) activent l'hypertrophie rénale compensatrice par une augmentation de la formation d'ADN. Ces globulines, en consommant les protéines rénales par formation d'antigène-anticorps, favorisent les synthèses cellulaires par la loi d'action de la masse. L'hypertrophie rénale compensatrice est par contre freinée par l'injection de globulines anti-rein hypertrophié isologue, à cause du blocage des biosynthèses cytonucléoplasmiques, dû à l'action rapide de la globuline anti-X, X étant la protéine spécifique de l'hypertrophie rénale compensatrice que nous avons identifiée par analyse immuno-électrophorétique (2^{ème} partie, chapitre VIII).

TABEAU N° 14 (reporté dans la Fig. 43)

Modification de la vitesse de formation d'ADN du rein droit au 3è jour après enlèvement du rein gauche, et décapsulation totale du rein restant.

J	:	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	
RHd, m	:	591	611	626	676	688	693	740	
	:	590	605	625	670	687	688	742	
	:	589	592	621	670	680	686	735	
	:	590	606	624	672	685	689	739	
	écart	1	5	3	4	3	4	3	$= \frac{23}{7} = 3$
RHg, m	:	578	578	585	620	564	546	570	
	:	579	580	585	619	560	546	565	
	:	577	576	582	615	567	542	567	
	:	578	578	584	618	563	543	567	
	écart	1	2	3	5	4	3	5	
:									
RHd/RHg = H		1,02	1,04	1,07	1,09	1,22	1,27	1,30	$= \frac{24}{7} = 3$
RLd, m	:		598	600	578	602	604	600	
	:		600	601	580	598	604	599	
	:		589	590	582	596	601	595	
	:		595	596	580	598	603	598	
	écart		5	5	2	4	1	3	$= \frac{20}{6} = 3$
RLg, m	:		585	570	560	565	587	563	
	:		587	575	562	561	586	561	
	:		578	577	563	559	583	558	
	:		583	577	561	561	585	560	
	écart		5	2	2	4	2	3	$= \frac{18}{6} = 3$
:									
RLd/RLg = L			1,02	1,03	1,03	1,04	1,05	1,06	

Légende :

J = Jours après enlèvement du rein gauche.

RHd, m et RHg, m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas rein, chez l'animal néphrectomisé à gauche, rein droit décapsulé, moyenne de 3 expériences.

RLd, m et RLg, m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas rein, chez l'animal lombotomisé, moyenne de 3 expériences.

SUITE DU TABLEAU N° 14

J	:	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
HC	:	100	102	104,252	106,548	118,892	121,264	123,618
dHC	:	0	2	2,252	2,296	2,344	2,372	2,354
$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$	:		1	1,126	1,148	1,172	1,176	1,172
2σ	:							0,01
P	:							0,05

Légende :

J = Jours après enlèvement du rein gauche

HC = Quotient en pour cent du rapport H/L

H = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal néphrectomisé à gauche (rein droit décapsulé)

L = ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal lapbotomisé

dHC = Variation différentielle des valeurs HC par 0,5 jour

$(dHC)_t / (dHC)_{0,5}$ = Variation différentielle dHC à chaque instant rapportée à dHC du jour 0,5

σ = écart type

P = probabilité extérieure à l'intervalle $\pm 2\sigma$

Fig. 43

MODIFICATION DE LA VITESSE DE FORMATION D'ADN RENAL
après décapsulation totale du Rd

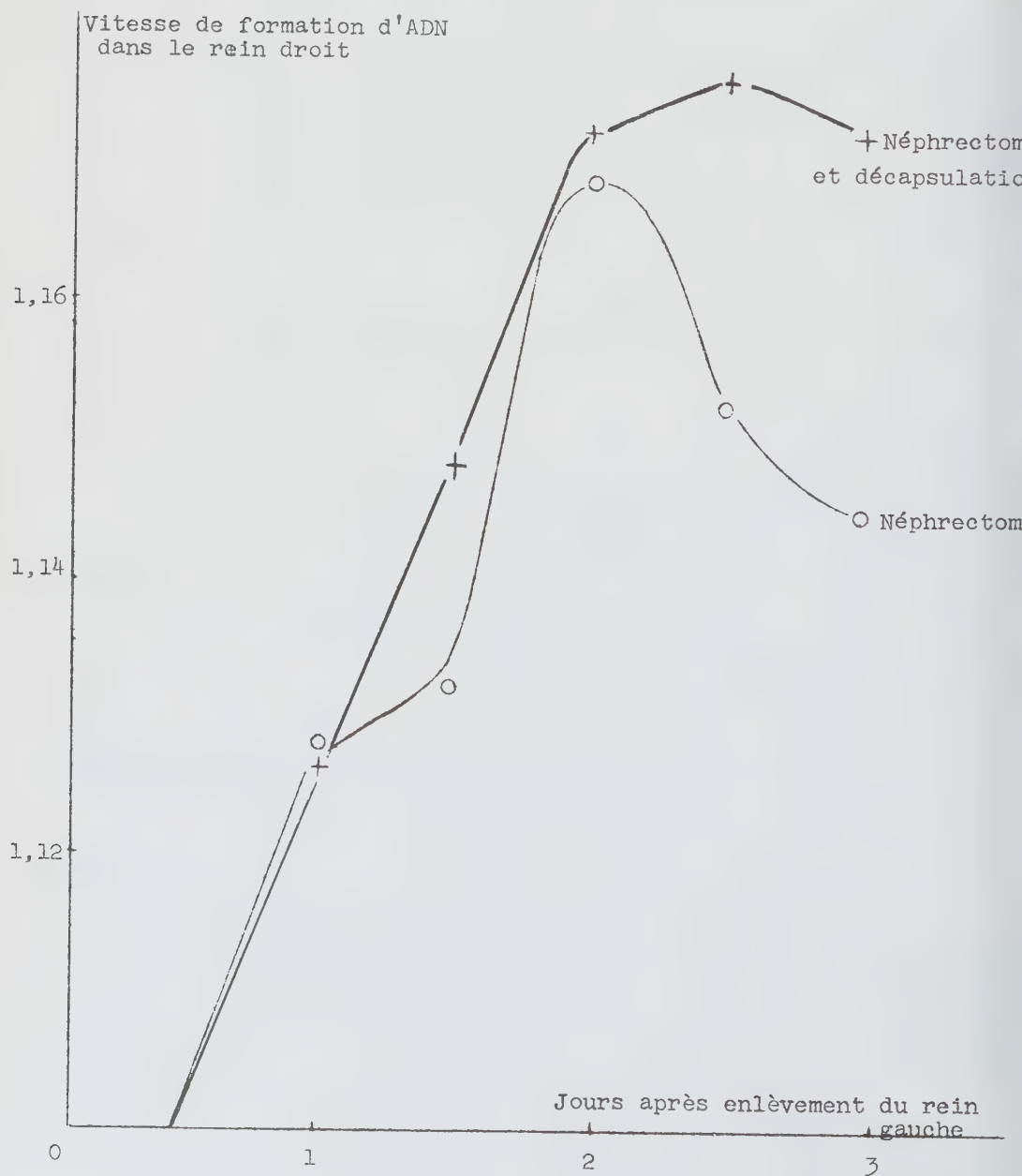


TABLEAU N° 15 (reporté dans la Fig. 45)

Rapport ADN du rein hypertrophié, décapsulé totalement (ND),
décapsulé au tiers (ND/3)

sur ADN du rein hypertrophié non décapsulé

3 jours après enlèvement du rein gauche.

Libellés	Expériences	Rapport	Comparaison
Rein décapsulé au tiers (ND/3) :			
	683		
	688		
	690		
RHd,m	687		
écart	4		
	555		
	558		
	564		
RHg,m	559		
écart	5		
Hd/RHg = H	1,23		
Rapport des H : (ND/3)			
N	Réf. Tableau n°6	1,23/1,19	1,04
Rein décapsulé totalement (ND)			
Résultat brut, rapport des H :			
(ND)/N	Réf. tableaux n° 6 et 14	1,30/1,19	1,09
Résultat après transformation			
Rapport des HC :			
(ND)/N	Réf. tableaux n° 6 et 14	123,618/113,448	1,08
			0,01
			0,05

Legende RHd,m et RHg,m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas/rein chez l'animal en hypertrophie rénale compensatrice.

C = Quotient en pour cent du rapport H/L.

= ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal néphrectomisé.

= ADN du rein droit sur ADN du rein gauche, chez l'animal lombotomisé

= écart type P = Probabilité extérieure à l'intervalle $\pm 2\sigma$

TABLEAU N° 16 (reporté dans les Fig. 46 et 47)

Rapport ADN du rein hypertrophié	
décapsulé totalement	ND
dont le pédicule rénal est phénolé (solution aqueuse à 5%)	P
décapsulé au tiers	ND/3
des souris ayant reçu en IP 5 /g de globulines	
anti-rein hypertrophié de souris isologues	anti-RH
anti-rein normal de souris isologues	anti-RN
anti-rein normal de porc	anti-RN

Sur ADN du rein hypertrophié de la souris non traitée	N
---	---

Libellés	Expériences	Rapport	Comparaison
<u>non traité (N) :</u>	Réf. Tableau n°6	1,19	
<u>Décapsulé totale-</u> <u>ment (ND)</u>	Réf. Tableau n°14	1,30	
(ND)/N		1,30/1,19	1,09
<u>Phénolé (P) :</u>	655		
	654		
	658		
	660		
	661		
RHd, m	658		
écart	3		
	510		
	512		
	515		
	516		
	519		
RHg, m	514		
écart	5		
RHd/RHg = P		1,28	
P/N		1,28/1,19	1,08
<u>décapsulé au</u> <u>tiers (ND/3)</u>	Réf. Tableau n°15	1,23	
(ND/3)			
N		1,23/1,19	1,04

Légende : RHd, m et RHg, m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas/rein chez l'animal en hypertrophie rénale compensatrice moyenne de 5 expériences.

SUITE DU TABLEAU N° 16

Libellés	Expériences	Rapport	Comparaison
<u>Traité à l'anti-RN :</u>	630		
	633		
	634		
	635		
	638		
RHd,m	634		
écart	4		
	517		
	519		
	520		
	521		
	523		
RHg,m	520		
écart	3		
RHd/RHg=Anti-RN:		1,22	
(anti-RN)/N		1,22/1,19	1,03
<u>Traité à l'anti-RNP</u>	512		
	513		
	515		
	517		
	518		
RHd,m	515		
écart	3		
	497		
	499		
	500		
	501		
	503		
RHg,m	500		
écart	3		
RHd/RHg=anti-RNP		1,23	
(anti-RNP)/N		1,23/1,19	1,04

Légende : RHd,m et RHg, m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas/rein chez l'animal en hypertrophie rénale compensatrice, moyenne de 5 expériences.

SUITE DE TABLEAU N° 16

Libellés	Expériences	Rapport	Comparaison
<u>traité à l'anti-</u>			
<u>RH</u> :	599		
	599		
	601		
	602		
	603		
RHd,m	601		
écart	2		
	506		
	507		
	510		
	513		
	514		
RHg,m	510		
écart	4		
RHd/RHg=anti-RH		1,18	
(anti-RH)/N		1,18/1,19	0,995
2 σ			0,01
P			0,05

Légende :

RHd,m et RHg,m = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas/
rein chez l'animal en hypertrophie rénale compensatrice, moyenne
de 5 expériences.

σ = écart type

P = probabilité extérieure à l'intervalle $\pm 2 \sigma$

Fig. 44



Fig. 45

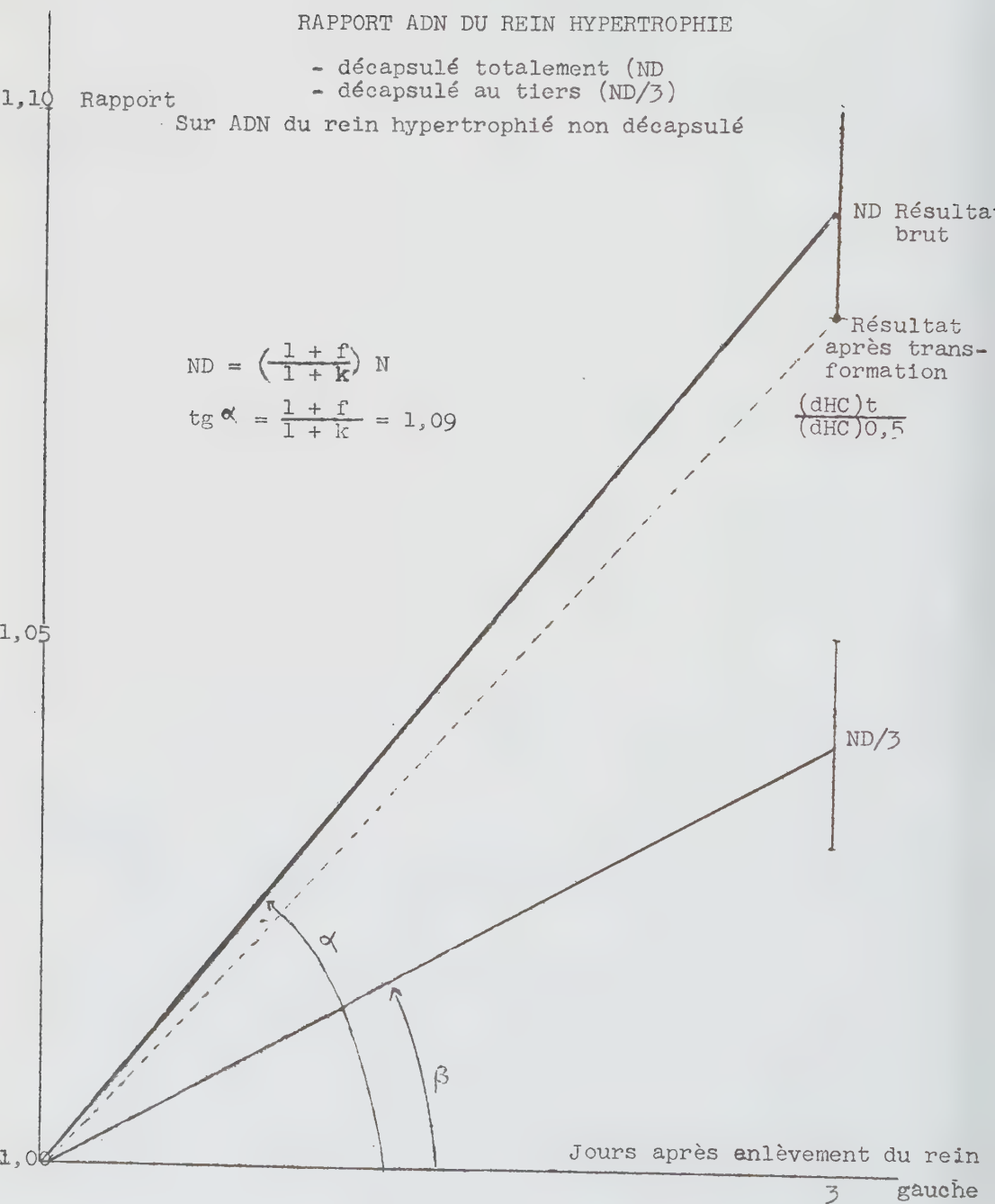


Fig. 46

RAPPORT ADN DU REIN HYPERTEOPHIE

- décapsulé totalement
- ▨ dont le pédicule rénal est phénolé (solution aqueuse à 5%)
- ▲ décapsulé au tiers
- ▩ de la souris ayant reçu des globulines anti-Rein RN (I.P., 5 γ/g) sur ADN du rein hypertrophié non traité

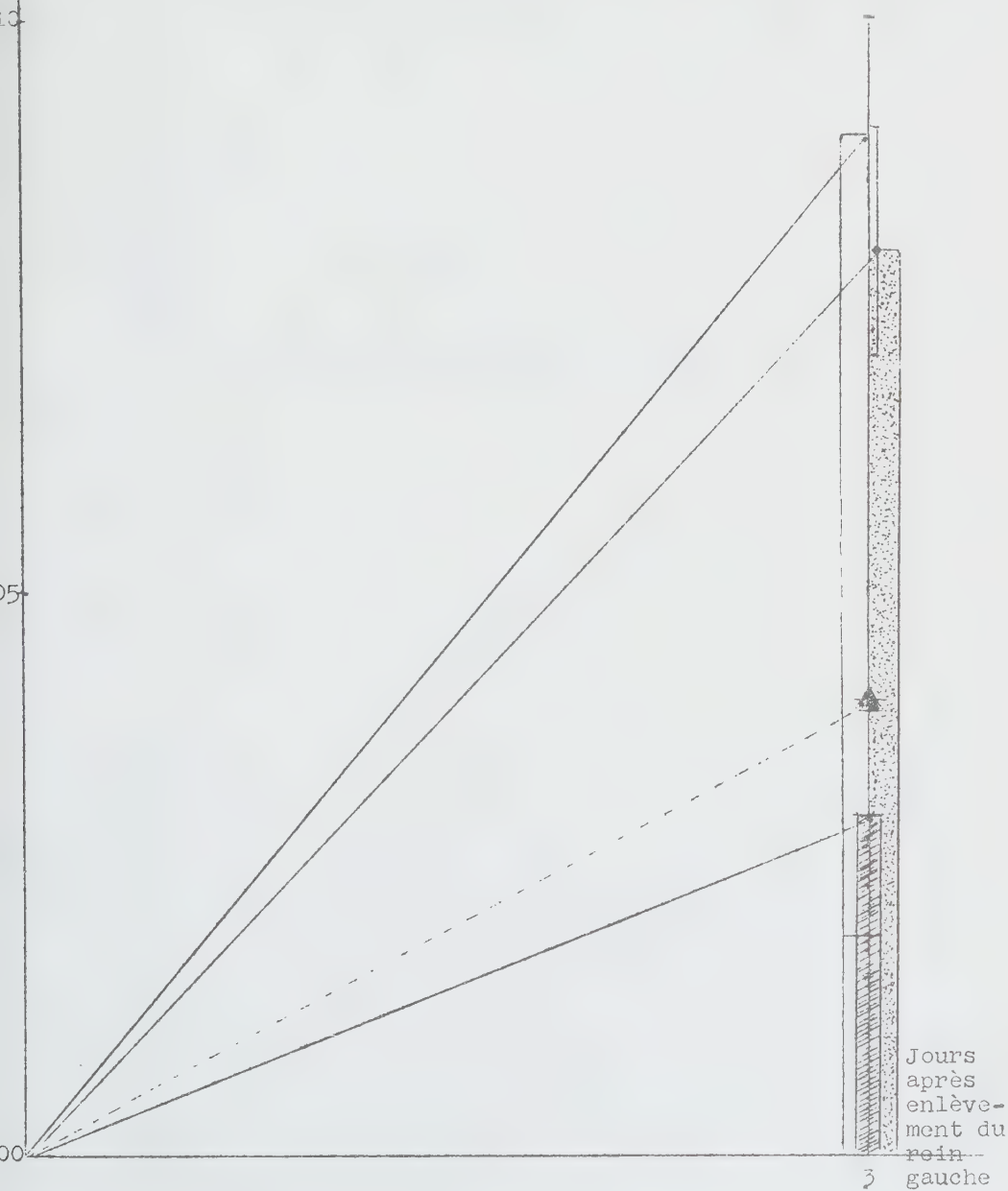


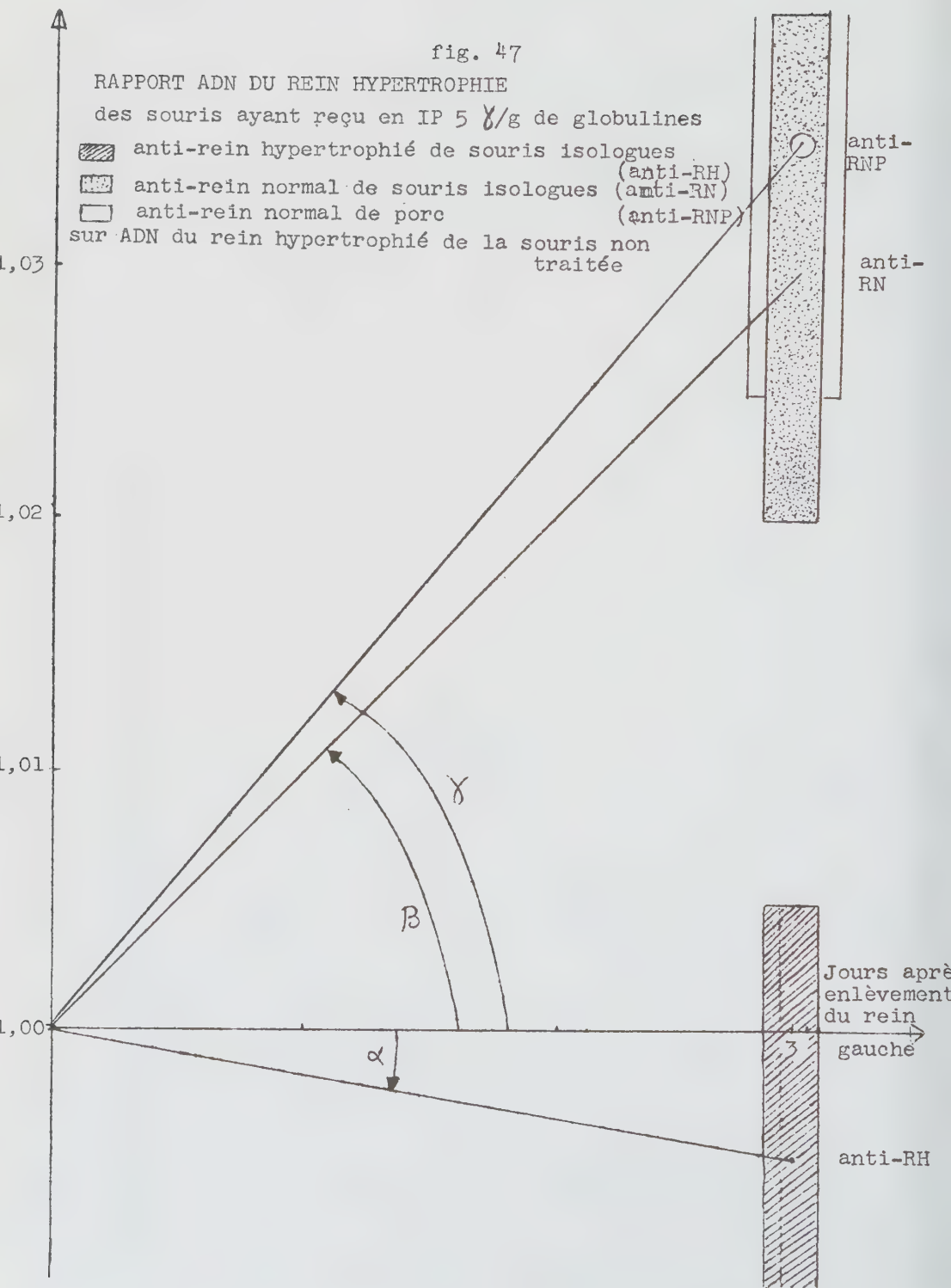
fig. 47

RAPPORT ADN DU REIN HYPERTROPHIE

des souris ayant reçu en IP 5 γ /g de globulines

-  anti-rein hypertrophié de souris isologues (anti-RH)
-  anti-rein normal de souris isologues (anti-RN)
-  anti-rein normal de porc (anti-RNP)

sur ADN du rein hypertrophié de la souris non traitée



3ème PARTIE

ETUDE CRITIQUE DE NOS RESULTATS EXPERIMENTAUX

Nous allons examiner successivement :

- la discussion critique de la méthode adoptée pour l'étude quantitative de l'hypertrophie rénale compensatrice
- la comparaison critique des résultats expérimentaux avec ceux des études antérieures
- la validité de notre étude analytique du conditionnement de l'hypertrophie rénale compensatrice avec rappel synthétique des résultats.

CHAPITRE I

DISCUSSION CRITIQUE DE LA METHODE ADOPTEE POUR L'ETUDE QUANTITATIVE DE L'HRC

Avant d'entamer les discussions sur les résultats expérimentaux de l'HRC que nous avons obtenus par les techniques d'investigation personnelle, nous en ferons une récapitulation succincte :

1/ Il n'est pas possible de compter la radioactivité de l'ADN rénal marqué par la thymidine radioactive du jour 0 au jour 15, le taux d'incorporation étant trop faible. Le marquage est seulement décelable à partir du 15^e jour d'HRC. Mais cette courbe tracée dans la période tardive ne saurait nous renseigner sur le mécanisme et le déterminisme de l'HRC qui sont les phénomènes qui débutent dès la néphrectomie.

2/ L'utilisation de la souche de souris génétiquement déterminée C57 RCH, dont le rapport ADN du rein droit/ADN du rein gauche est une constante biologique parfaite, nous a permis de tracer la courbe d'augmentations différentielles (dx) d'ADN rénal en HRC du jour 0 au jour 15 par intervalles de 12 heures (dt).

$\frac{dx}{dt}$ traduit la vitesse de formation d'ADN.

Nous avons vus dans la Fig. 19 qu'elle présente 2 allures distinctes avec une 1^{ère} phase à maximum situé au 2^e jour, une 2^e phase avec maximum situé au 8^e jour. Les études de prolifération cellulaire de QUASTLER (1960) basées sur l'évaluation du rapport : un stade de mitose marqué/toutes les mitoses marquées ont révélé cette variation en 2 phases (Fig. 19bis).

3/ La recherche de la meilleure heure de néphrectomie nous a conduit à l'adoption d'une exécution à 14 heures, car dans l'intervalle ultérieur de 48 heures, il se produit plus de synthèse d'ADN que dans le cas de néphrectomies effectuées à 8 heures ou à 20 heures. Nous avons donc introduit ce paramètre (néphrectomie à 14 heures) dans toutes nos expériences, ce qui assura une excellente reproductibilité des résultats que nous rapportons toujours au chiffre trouvé dans le rein homologue d'un même animal. Ce rapport est à nouveau comparé avec celui venant d'un animal lombotomisé soumis aux mêmes conditions d'expérimentation. Et il est capital de noter que lorsque le rapport:

$$\frac{RHd/RHg}{RLd/RLg} \quad \text{est voisin de 1}$$

nous n'avons plus le droit de conclure à l'HRC. Nous ne concluons à l'HRC que lorsque le numérateur présente une valeur bien supérieure au dénominateur. Ce dénominateur est la résultante des processus mitotiques imputables :

- au renouvellement cellulaire normal après mort cellulaire
- à la croissance cellulaire normale en fonction du temps
- au traumatisme post-opératoire

4/ La Fig. 21 décrit les augmentations différentielles d'eau, de l'ARN, de l'ADN dans le rein en HRC pendant les 3 premiers jours après néphrectomie.

La courbe de l'eau est maximale après 1 jour 1/2 et la courbe d'ARN suit fidèlement la courbe de l'eau, comme si

 RHd et RHg = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas/rein
 chez l'animal en hypertrophie rénale compensatrice

RLd et RLg = ADN du rein droit et du rein gauche en gammas/
 rein chez l'animal lombotomisé.

l'eau était transporteur de l'ARN. Mais cet effet qui pourrait tromper est rapidement dissocié par l'étude des variations de l'eau et de l'ARN du rein des souris en HRC, souris ayant en outre reçu des extraits de tissus d'animaux isologues en voie d'HRC (Fig. 22 et Fig. 23).

La courbe d'ADN est maximale seulement après 2 jours, c'est-à-dire après celle d'ARN. Elle présente un stade de transition entre 1 jour et 1 jour $1/2$ pendant lequel la vitesse de formation d'ADN cesse de croître pour augmenter par la suite. Nous allons voir par la suite que cette zone d'inflection correspond à un changement du déterminisme qui, de local, devient subordonné à un ordre donné à distance.

5/ La Fig. 24 montre que l'injection des tissus de souris isologues en voie d'HRC, augmente la vitesse de formation d'ADN au 3^e jour. Il s'agit ici d'un tropisme stimulateur rénal et non cérébral, que nous allons démontrer par la suite.

6/ Les augmentations différentielles du glycogène rénal suivent très fidèlement et de très près celles de l'ARN rénal (Fig. 25). Elles sont maximales toutes deux à 1 jour $1/2$. C'est l'image typique d'un précurseur immédiat d'une chaîne de réactions enzymatiques à une très grande rapidité. Le ribose (C_5) provient du glucose (C_6). Ceci rejoint les travaux d'interconversion entre ribose-5-phosphate et glucose-6-phosphate de très nombreux auteurs (TUPULE 1959, DISCHE 1958, COURI 1959).

CHAPITRE II

COMPARAISON CRITIQUE DES RESULTATS EXPERIMENTAUX AVEC CEUX DES ETUDES ANTERIEURES

Nous avons tenté de préciser les mécanismes et le déterminisme de l'HRC, en suivant les modifications de quelques constituants biochimiques cellulaires principaux. Nous avons volontairement délaissé de nombreux constituants biochimiques classiques dont l'évolution est étudiée dans de très nombreux travaux concernant le développement cellulaire in vivo ou in vitro tels que lipides, phosphatides, enzymes : phosphatases, hexokinases...

Ces études sont certainement intéressantes, mais en marge de notre sujet, axé spécialement sur le mécanisme et le déterminisme du phénomène nucléo-cytoplasmique. C'est intentionnellement aussi que nous n'avons pas utilisé les constantes fonctionnelles du rein. Il peut être opportun de rappeler ici les principaux travaux qui permettent de comprendre la régulation du fonctionnement rénal dès la néphrectomie.

Selon les théories modernes de la filtration rénale, il faut opposer aux phénomènes "passifs"; la filtration glomérulaire, la réabsorption "obligatoire" au niveau du tube proximal, des mécanismes actifs nécessitant de l'énergie. C'est ainsi que la résorption du potassium (MUDGE 1951), celle du glucose (KALGKAR 1939) nécessitent la présence de composés phosphorylés à potentiel énergétique, élevé. L'excrétion tubulaire est également liée au métabolisme énergétique rénal. TAGGART et FORSTER (1950) ont noté l'arrêt d'excrétion de la

phénol-sulfone-phtaléine sur des préparations en tubes rénaux isolés de flet (poisson appartenant au genre de pleuronectides) par adjonction de 2-4 dinitrophénol inhibiteur de la synthèse de l'ATP. Avec LOWELL (1953), il faut admettre que l'activité métabolique des cellules tubulaires est infiniment supérieure à celles des glomérules. Ceci expliquerait-il les étonnantes possibilités de régulation du rein restant après mononéphrectomie. Sur le million de néphrons qui peuvent exister dans le rein, un tiers, non fonctionnel, entre immédiatement en jeu lors de la néphrectomie unilatérale.

C'est ainsi que dès 1924, ADDIS et Coll. avaient constaté que chez le lapin mononéphrectomisé la clearance de l'urée est de 63 % de la valeur pré-opératoire entre le 15^e et 35^e jour, de 79 % au bout de 4 mois, sans toutefois atteindre la valeur de 100 %.

Plus récemment, BRAUN-MENENDEZ (1947) démontrait que les clearances de l'inuline et du diodrast chez le rat, sont presque normales, dès le 5^e jour après la néphrectomie, que le rein restant était capable d'accomplir 70 % de filtration glomérulaire et de l'excrétion tubulaire, mais qu'il acquérait seulement en 3 mois, 80 % de ses possibilités excrétoires.

Avant la néphrectomie, les 50 % du fonctionnement rénal total sont imputables au $\frac{2}{3}$ des néphrons de chaque rein. Donc le tiers de néphrons correspond à 25 % du fonctionnement rénal total. A la néphrectomie, les $\frac{2}{3}$ des néphrons du rein restant rentrent en service et représentent de ce fait les 75 % du fonctionnement rénal total.

La démonstration de cette régulation rapide est faite par la mesure très fine de la clearance à la créatinine chez le

le rat, donc l'urine est recueillie directement par une fistule en plastique placée à demeure et au fond de la vessie du rat en expérience. (Colette Briot et BAILLET 1962). Les auteurs ont pu ainsi recueillir les urines correspondant au sang prélevé par une sonde jugulaire placée à demeure. La précision de l'établissement de la clearance dépend ainsi du fait qu'on se repose sur la créatinine endogène, facteur biologique invariable pour un organisme donné au moment de l'expérience. Ainsi les auteurs ont pu démontrer la régulation du fonctionnement rénal à 70 % de la valeur originelle dès les premières heures après la néphrectomie. Aussi ne peut-on trouver dans l'étude d'une donnée fonctionnelle rénale un reflet fidèle de l'hyper-trophie tissulaire compensatrice.

Dans un laps de temps relativement court par rapport à la propagation, mais en période de vitesse de propagation constante, l'HRC couvre une perspective sur l'étude de la division cellulaire normale in vivo, présentant les mêmes bases que la croissance cellulaire normale comme le faisait remarquer B. GLASS (1958) dans les conclusions d'un récent symposium sur la biochimie du développement.

Les travaux originaux de QUASTLER (1960) de cinétique de renouvellement cellulaire in vivo, repris par SHERMAN (1960), CATTANEO (1961) sont basés sur l'étude du rapport : "Noyaux marqués d'une certaine phase mitotique/noyaux marqués". en fonction du temps entre le marquage et le sacrifice, ont montré par des méthodes histo-auto-radiographies que :

- pour un tissu à renouvellement cellulaire lent, il existe un mode constant de renouvellement (Fig. 19 bis)
- pour un tissu à renouvellement cellulaire rapide, il existe un mode variable de renouvellement que nous avons trouvé en HRC par la méthode biochimique.

Dans la 2ème partie, chapitre III, nous avons signalé que :

- le cycle mitotique dure 12 heures, dont 7 heures pour la phase de synthèse d'ADN
- la durée interphasique pour le rein est de 228 heures au minimum à l'équilibre mitotique. C'est le raccourcissement de cette durée qui est la cause de l'HRC. C'est l'accélération et l'augmentation de biosynthèse cytoplasmique imposant leur rythme au noyau qui seraient responsables du phénomène.

Lorsqu'on l'examine, sous l'angle morphologique, l'hyper-trophie compensatrice ne comporte pas de création de nouveaux néphrons pour le rein, de nouveaux lobules excisés pour le foie. C'est le tissu restant qui est le siège d'une série de phénomènes biochimiques, cytoplasmiques, nucléaires, aboutissant à la reconstitution partielle de la masse tissulaire enlevée.

Nous avons démontré qu'avec des globulines anti-rein isologues ou hétérologues, nous avons inhibé ou augmenté l'HRC. D'un autre côté, nous avons montré qu'un extrait de diencéphale informé augmente l'HRC et que la décapsulation du rein hypertrophié ou la phénolisation du pédicule rénal augmente de même l'HRC. Il y a sans conteste une relation entre le métabolisme diencéphalique et l'HRC.

A ce dernier propos, MAILLET (1957) a peut-être involontairement jeté déjà certaines bases d'études dans la création des lésions rénales par lésion diencéphalique.

Nous aurons certainement besoin des neuro-électrophysiologistes de l'espace pour nous apprendre à faire des implan-

tations d'électrodes à demeure dans la région diencephalique. La mesure du potentiel électrique dans le cerveau au point de vue variation quantitative et qualitative est certes difficile mais la plus grande difficulté à surmonter est la définition du lieu de mesure par stérotaxis selon les coordonnées de l'espace.

L'établissement de cette carte inconnue de nous tous pourrait mesurer le métabolisme cérébral en HRC et nous faire comprendre la relation intime entre les échanges électroniques de la matière et l'activité mitotique in vivo à distance.

Telle est la connaissance que nous espérons obtenir un jour, comme suite à ce travail.

S'il existe tant de controverses en matière d'HRC :

1/ C'est parce que si l'on se limite aux données anatomiques (poids du rein par exemple), l'on se heurte à de multiples causes d'erreurs dans une étude forcément tardive.

2/ C'est parce que, si l'on utilise les variations d'une constante biochimique nucléo-cytoplasmique, les résultats sont tributaires de la variation des chiffres "témoin" chez les animaux homologues. Nous utilisons heureusement la souche génétiquement déterminée C57 RCH qui a l'avantage de présenter une bonne distribution gaussienne des rapports d'ADN du rein droit sur ADN du rein gauche et dont le développement rénal rapide et avantageux a été déjà rapporté dans la 1ère partie chapitre I.

3/ C'est aussi parce qu'on n'a pas désigné ou décrit le phénomène étudié d'une manière explicite. En relisant les travaux relatifs à ce sujet, on découvre rapidement que de

nombreux auteurs n'ont étudié qu'une certaine étape du phénomène, étape qu'ils ont confondue avec le phénomène entier. Nous avons vu que les phénomènes essentiels de l'HRC se déroulent très vite, sa phase initiale débute dès la néphrectomie et nous évaluons sa durée à l'intervalle du jour 0 au jour 3. Toutes les études qui extrapolent les observations effectuées à un moment quelconque, surtout à un stade tardif de l'HRC, au phénomène tout entier ou qui se bornent à une observation fragmentaire ne peuvent donner la véritable relation de la totalité des phénomènes.

Pour notre part, l'HRC est l'ensemble des phénomènes suivants:

hypertrophie cytoplasmique	(HC)
+ hyperplasie nucléaire	(HN)
+ mitoses imputables à l'HRC	(M)

Donc $HRC = HC + HN + M$

Nous négligeons le liquide extracellulaire qui appartient au problème du transport d'eau en HRC, problème étranger à celui présentement étudié (1)

(1) Dès la néphrectomie, il y a envahissement des espaces intracellulaire et interstitiel, par l'eau de l'espace vasculaire dont la destinée normale était de suivre le chemin de l'excrétion liquidienne assurée par le rein enlevé. Vu l'importance de sa distribution dans les lers espaces (Fig. 47bis), et qu'il n'a jamais été signalé de dilution plasmatique en HRC, on comprend clairement l'importance des erreurs inévitables des études basées sur les critères pondéraux en HRC. Nous notons en passant que :

C'est à travers les céments intercellulaires (et non à travers les cellules) que se font les échanges hydriques au niveau du rein,

La cellule normalement hypertonique par rapport au liquide interstitiel qui vient d'être dilué, va devenir encore relativement plus hypertonique : ce qui revient à dire que son travail de lutte contre l'envahissement hydrique, défini par les lois physico-chimiques d'osmose, est relativement plus important.

4/ Les évaluations qui faussent les résultats proviennent enfin des mitoses non liées à l'HRC. Nous avons signalé que celles-ci étaient dûes au renouvellement cellulaire normal, à la croissance cellulaire normale, au traumatisme post-opératoire.

Nous avons également souligné le bénéfice introduit par le rapport des valeurs obtenues chez l'animal néphrectomisé à celles obtenues chez l'animal lombotomisé. En résumé, il ne semble pas qu'il faille rechercher dans le fonctionnement rénal du rein restant une corrélation quelconque avec l'HRC que nous avons défini plus haut, car ce fonctionnement est assujetti à un mécanisme de régulation qui préexiste déjà dans le rein restant, grâce au tiers de néphrons non fonctionnels.

En conséquence, en physiologie cellulaire, nous écartons ce facteur tissulaire de régulation immédiate dans la définition de l'HRC, et nous restons fidèles à l'équation déjà définie :

$$\text{HRC} = \text{HC} + \text{HN} + \text{M}$$

5/ L'HRC est une augmentation de la population cellulaire sans création de nouveaux organites (néphrons) : le phénomène essentiel est donc bien la duplication, au niveau de certaines cellules, au moins du stock d'ADN.

Pour être clairs, nous nous reportons à la Fig. 52 où nous voyons au départ 4 cellules avec 4 unités arbitraires d'ADN. A l'instant où nous prélevons les reins, il y a 5 cellules avec 7 unités arbitraires d'ADN par exemple.

Le nombre de cellules a augmenté de $(5 - 4)/4 = 1/4$.

Le nombre d'unités d'ADN a augmenté de $(7 - 4)/4 = 3/4$, soit de 300 % en plus de l'augmentation du nombre de cellules.

Ce qui explique la possibilité de l'étude selon notre technique. Nous savons que d'une manière générale, la cellule qui a amorcé sa synthèse d'ADN, s'oriente irrémédiablement vers la mitose, et qu'il n'y a pas de polyploïdes dans l'HRC, dans les stades tardifs. Mais au 3^e jour après mononéphrectomie, Becker (1959) a noté des noyaux di et tétraploïdes dans le rein restant. C'est grâce à la polyploïdie que nous avons pu suivre avec précision l'évolution de l'hypertrophie compensatrice du rein.

En résumé, notre méthode est non seulement plus précise que celles basées sur les critères pondéraux, elle est encore plus sensible que celles basées sur les index mitotiques, car dès les premiers jours après néphrectomie unilatérale, le rein hypertrophié présente plus de cellules polyploïdes que de cellules en division à $2n$ chromosomes, celles-ci constituent les points de repères des méthodes histologiques.

CHAPITRE III

VALIDITE DE NOTRE ETUDE ANALYTIQUE DU CONDITIONNEMENT DE 1'HRC

En possession d'un repère sûr qui nous permet de suivre quantitativement le processus d'HRC, nous avons tenté d'analyser les mécanismes de 1'HRC.

1/ L'incorporation de l'acide glutamique radioactif C-14 dans les protéines cérébrales exprimée par le rapport IR/IT en % (Incorporation Régionale sur Incorporation Totale en %) montre très clairement une incorporation dans la région diencephalique au détriment des autres régions où ce rapport est inversé. Ce qui traduit un métabolisme cérébral plus important dans la région diencephalique que dans les autres régions du cerveau en cas d'HRC (Fig. 28).

2/ Mais le problème important est de connaître si cette augmentation du métabolisme cérébral de la région diencephalique était relative à la néphrectomie ou à 1'HRC, autrement dit à la suppression du fonctionnement rénal gauche ou au processus mitotique rénal droit. Pour répondre à cette question, nous avons tracé les courbes d'ADN du rein chez les souris en HRC d'une part et des souris en HRC soumises à l'action de la réserpine, substance très employée en neurochimie comme mobilisateur des monoamines du système nerveux central, et de ce fait abaissant le métabolisme cérébral.

La Fig. 29 montre que chez les souris en HRC soumis à la réserpine, la vitesse de formation d'ADN rénal est très basse à partir de 1 jour, et qu'il y a corrélation entre 1'

incorporation d'acide glutamique radioactif C-14 de la région diencéphalique avec l'HRC et plus précisément entre le métabolisme cérébral de la région diencéphalique et la synthèse d'ADN rénal du rein en HRC.

Il est intéressant de noter que cette corrélation n'existe pas du jour 0 au jour 1 après néphrectomie. Cela serait-il dû à la manifestation tardive de l'action de la résérpine qui est injectée lors de la néphrectomie ? Pour dissiper ce doute, nous avons répété les mêmes expériences en injectant la résérpine 48 heures avant la néphrectomie dans l'espoir de nous assurer que son action se manifeste bien dès les premières heures après la néphrectomie.

Les résultats reportés dans la Fig. 29 ne présentent point de modifications par rapport aux résultats antérieurs. La vitesse de formation d'ADN du jour 0 au jour 1 est la même chez la souris en HRC, qu'elle ait reçu ou non de la résérpine lors de la néphrectomie ou 48 heures avant la néphrectomie.

3/ Les protéines intracellulaires rénales en HRC ont une vitesse de formation presque nulle avant 1 jour 1/2, mais elles augmentent ensuite d'une manière rapide et continuent même au-delà du 3^e jour (Fig. 30). Tout se passe comme si elles ne servaient en rien aux synthèses d'ARN et d'ADN du rein en HRC pendant les 2 premiers jours consécutifs à la néphrectomie.

4/ L'analyse immuno-électrophorétique en gélose, à pH 8,2, (Fig. 31), montre une séparation grossière en 5 fractions identiques des protéines sériques des souris en HRC à 30 jours et

des souris isologues normales. Ici, comme ailleurs, nous utilisons toujours des témoins isologues, on connaît l'existence possible de fractions protéiques sériques différentes entre animaux homologues ; (ce fait ayant été constaté entre autres par NEUZIL -(1958) et OUDIN (1959).

Ce résultat révèle une multispécificité d'un même antigène qui peut être conçue sous 2 aspects :

- Formes homotypiques : celles qui ne varient pas chez les animaux isologues
- Formes allotypiques : celles qui peuvent varier chez les animaux homologues.

Ce sont les motifs allotypiques, fonction des facteurs génétiques et pathologiques, qui expliquent certains échecs des homogreffes.

Les analyses immuno-électrophorétiques des protéines sériques des souris (Fig. 32) révèlent l'existence de 10 fractions antigéniques qu'on retrouve chez les souris normales, plus 1 fraction antigénique spécifique de l'état d'HRC.

Cette fraction est de diffusion lente. Elle occupe la place des bêta-2-M classiques. Elle peut-être considérée aussi comme une gamma-globuline particulière.

La Fig. 33 montre la spécificité des immun -sérums anti-protéines intracellulaires rénales des souris normales et des souris en HRC au 30^e jour. Il n'y a aucune parenté entre leurs motifs antigéniques et ceux du sérum. La Fig. 34 montre les résultats des précipitations en gélose, selon une micro-technique personnelle dérivée de celle d'Ouchterlony dont l'avantage est la rapidité : 12 heures contre 2 à 3 jours pour les autres techniques.

Il existe dans les protéines intracellulaires rénales du rein normal au moins 3 fractions antigéniques (I, II, III) révélables par l'immun-sérum anti-RH. On retrouve dans le rein hypertrophé ces 3 fractions, plus 2 fractions supplémentaires (type IV, V) révélées par l'immun-sérum anti-RH.

La Fig. 35 reporte les résultats des analyses immunoélectrophorétiques des protéines intracellulaires rénales des souris normales et des souris en HRC à 30 jours. Il existe chez la souris normale un minimum de 4 fractions protéiques : a, a', b, c, qu'on retrouve d'ailleurs chez la souris en HRC, celle-ci possède en plus au moins 1 fraction supplémentaire spécifique de l'état d'HRC : c'est la fraction (X) à mobilité de migration moyenne et à mobilité de diffusion lente. On note d'autre part que la fraction a'est plus abondante en cas d'HRC, s'identifiant à la fraction IV de la Fig. 34, non révélable dans RN à cause de sa faible concentration. La fraction X se reconnaît comme la fraction V par élimination. La fraction (a) est différente de (a') par au moins 2 fois 2 motifs antigéniques différents (se référer à la Fig. 36).

5/ La ligature de l'uretère du rein gauche ne provoque pas une formation d'eau dans le rein droit, différente de celle observée chez la souris en HRC (Fig. 37). La souris ayant l'uretère du rein gauche ligaturé, présente la même augmentation d'ARN et d'ADN à 1 jour (Fig. 38 et 39), mais, si la vitesse de formation d'ARN reste stationnaire, celle d'ADN décroît très rapidement.

6/ La ligature partielle du pédicule rénal du rein en hypertrophie compensatrice modifie les augmentations différentielles d'ARN, à partir de 1 jour (Fig. 40). Avant 1 jour, elle

est sans action. Tout se passe comme si l'HRC dépendait des apports sanguins après 1 jour, mais avant 1 jour, elle se propose sous l'effet d'une influence uniquement locale. Enfin, nous sommes étonnés de voir que la ligature partielle du pédicule rénal du rein en HC ne modifie pratiquement pas les augmentations différentielles d'ADN rénal (Fig. 41). On note entre 1 jour et 1 jour 1/2 la même zone d'inflection dont nous avons déjà parlé dans la 2ème partie, chapitre IX. La synthèse d'ADN avant 1 jour suit la même influence que celle d'ARN. Après 1 jour 1/2, son déterminisme est certainement extra-rénal et extra-sanguin.

7/ L'expérience finale reportée dans la Fig. 42 apporte ces connaissances supplémentaires suivantes sur l'incorporation d'acide glutamique radioactif C-14 dans les protéines cérébrales de la région diencéphalique :

a/ Chez la souris, en HRC, ayant reçu 1 injection d'extrait de cerveau de souris isologue en HRC, l'incorporation d'acide glutamique (HRC + C) est la même que chez la souris en HRC. Nous savons que cette injection augmente la synthèse d'ADN rénal chez la souris en HRC (2ème partie, Chapitre V). Il convient de penser que cette augmentation de synthèse est due à une action directe de l'extrait sur le parenchyme rénal.

b/ La ligature partielle du pédicule rénal chez la souris en HRC (HRC + lp) n'a pratiquement pas de répercussion sur l'incorporation d'acide glutamique dans les protéines cérébrales de la région diencéphalique, en comparaison avec la souris en HRC. La ligature de l'uretère du rein gauche (lu) non suivie de néphrectomie, n'a pratiquement pas de répercussion sur l'incorporation d'acide glutamique dans les protéines cérébrales, en comparaison avec la souris lombotomisée (L).

8/ La décapsulation totale et partielle du rein hypertrophié, augmente proportionnellement le nombre de mitoses dans le rein hypertrophié (Fig. 43 et 45). Ceci rend compte des localisations des récepteurs inhibiteurs de mitoses rénales au niveau de la capsule. Nous avons défini ces relations :

$$ND = \left(\frac{1 + f}{1 + k} \right) N$$

$$tg\alpha = \left(\frac{1 + f}{1 + k} \right) = 1,09$$

dans lesquelles ND et N sont les taux d'ADN du rein hypertrophié respectivement décapsulé et non décapsulé, f et k étant les constantes d'hypertrophie rénale compensatrices correspondantes.

La phénolisation du pédicule rénal conduit aux mêmes résultats que la décapsulation (Fig. 46). Ceci laisse comprendre que les mitoses d'hypertrophie rénale compensatrice sont dues à la suppression des récepteurs inhibiteurs de mitoses, de nature nerveuse, localisés sur la capsule rénale du rein hypertrophié.

Les injections de globulines anti-rein normal isologue ou hétérologue activent l'hypertrophie rénale compensatrice par une augmentation de formation d'ADN (Fig. 47). Ces globulines, en consommant les protéines rénales par formation d'antigène-d'anticorps, favorisent les synthèses cellulaires par la loi d'action de masse. L'hypertrophie rénale compensatrice est par contre freinée par l'injection de globulines anti-rein hypertrophié isologue, à cause du blocage des biosynthèses cytoplasmiques, dû à l'action rapide de la globuline anti-X, X étant la protéine spécifique de l'hypertrophie rénale compensatrice.

4ème PARTIE

DISCUSSIONS GENERALES

CHAPITRE I

RAPPEL DES FAITS ET HYPOTHESES CONNEXES LIES A L'HRC

Nous organisons la discussion autour d'un certain nombre de thèmes épars pris dans une vaste littérature qui nous serviront de base.

Nous examinons successivement :

1. Les phénomènes locaux dans la régulation tissulaire
2. L'hypothèse de substances humorales guidant la régulation tissulaire
3. Le rôle éventuel des phénomènes immunitaires (travaux de Weiss et d'Osgood).
4. Le rôle du système nerveux dans la régulation tissulaire.
5. La notion d'action nucléo-cytoplasmique rétrograde.
6. Le problème des cellules souches
7. Le problème connexe de la régénération
8. Le problème du développement de l'oeuf fécondé.

Quelle que soit la manière d'aborder le problème (phospholipides, protéines sériques, protéines intracellulaires rénales, etc... où tant de tentatives ont déjà été faites) nous aboutirons très probablement aux problèmes d'oxydation au niveau des mitochondries, c'est-à-dire un échange d'électrons, terme final des réactions biochimiques.

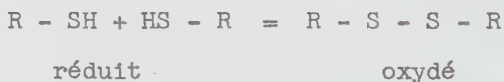
1/ PHENOMENES LOCAUX DANS LA REGULATION TISSULAIRE

BULLOUGH et LAURENCE (1960) postulent que chaque tissu

a son mécanisme de contrôle spécifique de mitoses. La peau blessée ou la peau en culture secrète une substance diffusible inhibitrice spécifique des mitoses locales; dans les couches profondes, sa concentration est forte et elle inhibe le développement cellulaire.

Dans nos expériences de lombotomies, nous sommes témoins de l'augmentation du rapport ADN du rein droit/ADN du rein gauche (Fig. 44). S'agit-il d'un traumatisme involontaire des récepteurs inhibiteurs, ou devons-nous comprendre cette augmentation de synthèse d'ADN comme soumise à l'action locale de la substance diffusible de Bullough et Laurence (1960)?

D'un autre côté, on sait que la théorie de l'inhibition locale de l'inhibiteur mitotique est déjà démontrée par ROGERS en 1959 dans ses études biochimiques sur les mitoses du bulbe pileux où l'auteur a pu extraire une protéine active par ses groupements -SH. C'est la transformation de -SH en -S-S- qui produit les mitoses, et c'est le mécanisme inhibiteur de cette oxydation qui freine le processus mitotique.



2/ HYPOTHESE DE SUBSTANCES HUOMORALES GUIDANT LA REGULATION TISSULAIRE

a/ Action Directe d'une substance excitante :

La théorie des tréphones de Carrel et des hormones (par exemple : la folliculine pour les cellules de la muqueuse utérine) nécessaire pour la croissance des cellules semblent avoir leur place dans l'hypertrophie compensatrice.

Si les recherches de l'intermédiaire biochimique responsable de l'HRC demeurent infructueuses, il n'en est pas de même dans les problèmes d'HC du foie. En 1923, AKAMATSU a montré que le sérum de rat hépatectomisé peut remplacer le jus embryonnaire en culture de tissus. La "stimuline" fut alors apparentée aux "tréphones" de Carrel, mais par la suite, on s'aperçut que le sérum de rats hépatectomisés n'a pas eu de lendemain.

Il en est de même pour les hormones. Si certaines ont des actions sur le rein et sur le foie (HALPERN 1951), aucune n'a une action directe dans l'HRC dans l'état actuel de nos connaissances.

Quelques auteurs ont émis leurs idées d'après les résultats obtenus en culture de tissus. OGAWA ((1958) trouve une stimulation des mitoses dans le rein en culture par action d'un sérum d'un rat en cours d'hypertrophie rénale. BARONE (1956) a montré que l'adjonction d'extrait de foie de rat en cours d'HRC permet la survie des explants hépatiques d'embryons de poulet. WRBA - (1960) poursuit l'étude d'une substance présente dans le sérum de rat hépatectomisé, laquelle favorise l'incorporation de P^{32} dans les explants de foie embryonnaire. Tous ces travaux tirent une grande valeur du fait que CROISILLE (1958) a montré que les extraits de foie d'embryon de poulet ne suffisent pas à assurer la survie d'explants hépatiques embryonnaires en culture d'organe. Ce qui revient à dire que dans le sérum ou dans l'organe hypertrophié, il existe des substances nouvelles favorables aux processus mitotiques.

En 1949, CHRISTIENSEN, en 1950 BUCHER montrèrent que chez des rats mis en parabiose, l'hépatectomie de l'un des

partenaires provoque l'apparition des mitoses dans le foie de l'autre, et concluait à la présence d'un facteur humoral responsable.

Ces résultats généralement admis viennent d'être contestés par ROGERS (1961), dans son travail admirable sur les parabiontes mettant leur "insuffisance de tissu hépatique" en commun. L'hépatectomie des 2/3 du foie revient à faire une hépatectomie des 2/6 de la masse hépatique des 2 réunis, ce qui est insuffisant à provoquer une hypertrophie du foie intact.

Les travaux de FRIEDRICH-FREKSA (1954) qui, injectant 2 ml de sérum de rat hépatectomisé à des rats normaux, ont constaté un taux de mitoses hépatiques multiplié par 40, n'ont jamais été confirmés, ainsi que ceux de BLOMQUIST (1957), SMYTHE (1958), ADIBI (1959), et même KOHN (1958), SAETREN (1956) qui utilisent des homogénats de foie hépatectomisé. Citons l'opinion de BEGG alors qu'il clôturait un débat sur ce sujet au congrès du Cancer en 1958 : "il semble bien que le sérum de rat normal réduise le taux de mitoses après hépatectomie partielle, alors que le sérum de rat hépatectomisé ne provoque pas d'inhibition mais peut-être une stimulation".

C'est d'ailleurs la levée d'une inhibition bien plus que l'apparition d'un facteur activateur qui est invoquée à l'heure actuelle pour expliquer le déclenchement des mitoses. A la suite de ses expériences, en culture de tissus, GLINOS a été en 1952 l'un des premiers à adopter cette hypothèse, qu'il exprimait à l'époque d'une façon simple et séduisante :

"C'est le foie lui-même qui met son propre inhibiteur en circulation chez le rat normal; lorsqu'on enlève une partie du

foie, on diminue la teneur, dans le sang, de cet inhibiteur et les phénomènes de prolifération commencent. Lorsque le foie a reconstitué sa masse, il produit et met en circulation la quantité de substance inhibitrice suffisante pour arrêter sa propre croissance. Il est à remarquer que la ligation partielle du pédicule du rein en HRC qui ne diminue pas la synthèse de l'ADN est incompatible avec l'hypothèse de GLINOS selon laquelle la substance inhibitrice est liée à l'albumine sérique. Mais la comparaison des observations est difficile car les phénomènes ont lieu dans des organes différents, à des temps différents.

Mais MOLIMARD (1959) n'est plus arrivé à inhiber la régénération du foie par simple injection de sérum de rat normal, et le sérum de rat hépatectomisé ne lui a pas permis non plus d'activer le processus d'une manière significative.

TEIR (1953) pense que l'on ne peut affirmer la présence exclusive d'un activateur ou d'un inhibiteur. L'homéostasie hépatique est certainement le résultat de l'équilibre entre influence inhibitrice et activatrice, le terme d'influence étant pris au sens large du mot. Il est d'ailleurs certain que l'on n'a pas affaire à un seul système, mais à plusieurs systèmes dont le nombre de facteurs théoriques a été défini, par QUASTLER (1960) comme égal à $R!2^R$, R étant le nombre de systèmes. Le nombre de facteurs croît très rapidement. Pour les systèmes à 1, 2, 3 ou 4 compartiments le nombre de facteurs sera respectivement 2, 8, 48, 384, etc...

FRAYSSINET (1962) a poursuivi des recherches parmi les phospholipides du foie de rat en hypertrophie compensatrice, mais l'auteur est obligé de conclure à la négativité. Les

phospholipides dont les évolutions quantitatives et qualitatives sont importantes en hypertrophie compensatrice du foie, ne paraissent pas indispensables au phénomène, car la surrénalectomie comme l'injection de cortisone qui fait respectivement baisser et augmenter leur taux ne change en rien dans la multiplication cellulaire.

b/ Action d'une population cellulaire G sur une population cellulaire R :

BRAUN-MENENDEZ (1953) postule que l'organisme fabriquerait une ou plusieurs substances (rénotrophines) : liées probablement au métabolisme protéique, détruites ou métabolisées normalement par le rein (Fig. 48). Quand l'équilibre entre la quantité de rénotrophines et la capacité du rein à y répondre est rompu (néphrectomie par exemple), la quantité de rénotrophines devient trop importante pour le rein restant et si l'on admet qu'elle a une action organo-stimulante, on saisit l'explication de l'HRC.

Madame de RECONDO (1962) a constaté une nette augmentation de l'activité de désoxyribonucléases sériques I et II après hépatectomie partielle dans la phase correspondante à la vague des mitoses. Ce fait est à rapprocher de l'augmentation d'activité des désoxyribonucléases tissulaires constatée dans le foie en hypertrophie compensatrice depuis 1958 (BRODY), 1960 (GOUTIER), 1961 (ZAHN).

Ces travaux montrent paradoxalement qu'il y a lyse puis synthèse de l'ADN lors d'un processus de réparation tissulaire.

Les travaux de Loiseleur (1963) sont bienvenus pour expliquer ce paradoxe. Au niveau du tissu cicatriciel, au niveau de la peau intacte et dans le sérum, les taux d'ADN (dosé par la méthode de Dische) augmentent dès les premières heures après la production de la plaie expérimentale par scarification. Ces taux sont liés constamment à l'évolution de la cicatrisation de la plaie et ils retombent à leur valeur normale dès que la cicatrisation est terminée.

En effet, au niveau de la lésion, la désoxyribonucléase interviendrait pour lyser les nucléoprotéines. Cette intervention de la désoxyribonucléase assurerait la spécificité des produits de lyse, spécificité indispensable pour que ces dernières puissent apporter une information exclusive aux nucléoprotéines de toute la peau entière. Si cette désoxyribonucléase est détruite, comme dans le cas d'une radionécrose, la restauration n'apparaît qu'avec un retard considérable en opposition avec le déclenchement immédiat dans l'expérience avec la plaie artificielle par scarification.

Frayssinet (1963) a bien montré l'augmentation de la DNase en hypertrophie compensatrice du foie; Loiseleur (1963) l'augmentation de l'ADN de la peau par suite de l'action de la DNase spécifique informatrice. Ces auteurs sont tributaires des difficultés que comportent leurs matériels d'études: foie et peau, au sein desquels ils sont obligés de faire une plaie. En HRC, la néphrectomie est faite à distance du rein restant; de ce fait, l'ambiguïté d'interprétation concernant le déterminisme du phénomène est levée, car celui-ci n'est nullement tributaire de la cicatrisation locale.

Weiss (1958) assure avec autorité que les cinétiques de reproduction de chaque type de cellules sont déterminées par des modèles (templates), de macromolécules protéiniques spé-

cifiques liées à la cellule; modèles qui catalysent la synthèse de nouveaux protoplasmes. Le contrôle de la synthèse des protoplasmes est effectué par des molécules antimodèles (anti-templates) diffusibles, produites par les cellules. Ces molécules antimodèles peuvent quitter leur cellule d'origine et entrer dans les espaces extracellulaires. Quand elles entrent à nouveau dans certaines cellules, elles se combinent avec les "molécules modèles" (à la manière des combinaisons antigènes-anticorps) et suppriment l'activité synthétique de celles-ci. Ainsi chaque cellule produit son propre inhibiteur de croissance, capable de la maintenir, restant ainsi dans un état d'équilibre où la production de nouvelle masse protoplasmique contre-balance les pertes dues au catabolisme, à la différenciation, à la maturation. Ainsi chez l'animal normal, les cellules ne demandent pas de stimulus pour entrer en division.

WOLFF (1952) a montré que la courbe de croissance d'une culture de 2 souches cellulaires chimériques diffère de celle correspondante à chaque souche pure. La conception de l'interdépendance de la population R et de la population cellulaire G est schématisée dans la Fig. 49.

Les substances humorales réno-inhibitrices seraient parallèles ou identiques aux substances informatrices dont la quantité serait proportionnelle à la masse de l'organe; ces substances détermineraient la sortie de substances freinatrices organo-spécifiques. Cette hypothèse est en accord avec nos conceptions actuelles: l'asservissement "organo-organisme".

Nous avons montré que l'HRC est précédé d'une régulation fonctionnelle immédiate, dès les lères heures après néphrectomie. Nous avons défini l'HRC comme la composante finale

de l'hypertrophie cytoplasmique suivie d'hyperplasie nucléaire, puis de mitoses. Nous avons mis en parallèle l'HRC et l'apparition dans le sérum des animaux en HRC (au 30^e jour) et dans les protéines intracellulaires du rein restant, de 2 fractions protéiques nouvelles différentes l'une de l'autre (Fig. 33).

- la fraction protéique para-gamma globulinique occupant la position des Bêta-2-M à mobilité de migration lente (Fig. 32)
- la fraction protéique intracellulaire "X" (Fig. 35) à mobilité de migration moyenne et à mobilité de diffusion lente.

Ces fractions disparaissent chez les animaux en HRC à 90 jours, et à 60 jours leur révélation par les immun-sérums correspondants est possible mais aléatoires. Si nous supposons que leur disparition correspond au ralentissement de l'HRC, aurons-nous le droit de dire qu'elles sont génératrices du phénomène par stimulation passive. La négativité d'une analyse immunochimique n'est pas une preuve formelle de la non existence des protéines cherchées. Pourrions-nous dire qu'elles ont existé chez les animaux avant l'ablation du rein, mais qu'il n'a pas été possible de les révéler vu leur très faible concentration ?

Nous avons fait plusieurs tentatives de séparation soit par précipitation au sulfate d'ammonium, soit par les épreuves d'épuisements immunologiques par des immun-sérums anti-sérum normal ou anti-protéines rénales normales. Vu la faible quantité de nos immun-réactifs et leur faible concentration, nous perdons la trace de cette protéine dès la première manipulation. De ce fait, nous pensons soit qu'elles sont de nature fragile, soit que leur concentration est bien inférieure à 10^{-4} , car les alpha-1-globulines sériques de concentration 10^{-3} sont parfaitement séparables par absorption immunologique.

Nous sommes toujours devant des faits négatifs concernant le facteur humoral responsable de l'HRC et nous nous sommes orientés vers le rôle des phénomènes immunitaires.

3/ ROLE EVENTUEL DES PHENOMENES IMMUNITAIRES (Travaux de Weiss et d'Osgood).

Le schéma de la Fig. 50 fait intervenir une 3^e population intermédiaire I, responsable des phénomènes immunitaires. Le processus d'action inhibitrice G X R est dévié en G I R. Le chemin GXR peut être alors remplacé par le chemin GIR où I est la population cellulaire intermédiaire de fabrication d'anticorps-anti-organes.

Cette nouvelle conception a l'avantage de rejoindre les récents travaux de Pressman (1957) qui a mis en évidence des auto-anticorps dans les éluats de broyat d'organes, et ceux de Rose (1960) qui a montré qu'il y a formation d'anticorps antithyroïde chez le porc à la suite des injections de thyroïde de porc. Selon ces auteurs, l'organisme sécrète une substance anti-organe retrouvée fixée sur les antigènes, venant de cet organe et au niveau de l'organe lui-même. On pourrait admettre qu'à la néphrectomie, l'action des anticorps anti-organes devenant excédentaires solubilise le complexe antigène-anticorps par déplacement de la zone d'équivalence.

Nous entendons par phénomènes immunitaires, les phénomènes réactionnels de la population I à l'égard d'un stimulus biochimique nouveau. Il n'y a pas lieu de penser aux phénomènes d'immunité extrême connus en vaccino ou sérothérapie jusqu'à production d'un anticorps précipitant. Il y a lieu de penser aux phénomènes de tolérance immunitaire de Médawar, reflets de l'effet Free-Martin qui résulte de la communica-

tion interplacentaire entre 2 foetus hétérozygotes chez la vache. La tolérance immunitaire est donc le résultat d'une interdépendance entre la croissance foetale et l'immunité. C'est une adaptation de l'organisme à une substance étrangère à cet organisme. En embryologie, pour réussir une greffe entre les Pleurodèles au stade "bourgeon caudal", on utilise avantageusement les receveurs plus jeunes que le donneur de greffe, car ils ont une faculté d'adaptation plus grande. En culture microbienne, on a observé que les souches microbiennes sont capables de s'adapter à une vie dans l'eau lourde. En cultures de tissus, les cellules peuvent même s'adapter aux toxiques, par exemple la morphine (travaux de Vernes).

L'immunité apparaît alors comme la conséquence de la reconnaissance si une certaine substance a été connue ou non dans l'embryogénèse ou dans le développement de l'organisme en bas âge. Si le codage "Souvenir de cette substance" existe chez l'organisme, celui-ci ne réagira pas contre la substance. Et on voit par là que l'immunité est intimement liée à la croissance cellulaire.

Nous avons vu précédemment que la croissance d'une souche de cellules in vitro change de rythme dès que celle-ci est en culture avec une 2^e souche. La courbe de croissance de ces 2 souches est sujette à une autre modification dès que celles-ci sont en culture avec une 3^e souche; elle est assujettie en effet à un nombre plus grand de manières de distribution de leurs métabolites. Dans ses études sur l'Information et la Cibernétique, BONSACK (1961) a montré, d'une manière très simple, que si une molécule peut se répartir dans 2 cellules de 3 manières différentes, elle peut se répartir dans 3 cellules de 6 manières différentes et ainsi de suite... et que l'entropie passe de 1,5 à 2,50 pour une augmentation d'une cellule à propos de la répartition d'une molécule entre 2 ou 3 cellules.

QUASTLER (1960) a chiffré dans ses études mathématiques de cinétiques des populations cellulaires, le nombre N de facteurs qui règlent la croissance de R populations cellulaires :

$$N = 2R (2R - 2) (2R - 4) (2R - 6) \dots = R ! 2^R$$

et l'on voit que la fonction N croît très rapidement par rapport à R comme 2, 4, 48, 384, par rapport à 1, 2, 3, 4. Et l'on se rend compte du grand nombre de facteurs réglant la régulation de la croissance cellulaire de l'organisme.

"Tout est dans tout" et "tout dépend de tout" semble dire l'équation de Quastler.

BONSACK (1961)

Entropie

$$dS = dQ/T = 1,5$$

2 Molécules, 2 cellules : Distribution 3 manières



prob. 1/4



1/2



1/4

+ 1 Cellule : Distribution 9 manières

dS' ^{2,5}
variation 66%



prob. 1/9



2/9



2/9



prob. 1/9



2/9



1/9

QUASTLER (1960)

Un système à R compartiments, N nb de facteurs de contrôle du système

$$N = R! \cdot 2^R = 2R (2R-2) (2R-4) (2R-6) \dots$$

$$R = 1 \quad 2 \quad 3 \quad 4$$

$$N = 2 \quad 8 \quad 48 \quad 384$$

4/ ROLE DU SYSTEME NERVEUX DANS LA REGULATION TISSULAIRE

Nous avons constaté qu'une injection d'extrait de cerveau de souris en HRC, à des souris isologues, favorise leur HRC. Le niveau d'action est le parenchyme rénal. Nous avons vu d'autre part que le métabolisme cérébral de la région diencéphalique est en corrélation avec l'HRC. Dans l'établissement de cette corrélation nous avons montré la dissociation de l'hypertrophie cytoplasmique et l'hyperplasie nucléaire en HRC. Nous allons discuter sur le rôle trophique du système nerveux végétatif et sur les substances humorales qui pourraient être responsables de l'HRC.

a/ Rôle "trophique" général du système nerveux végétatif:

Le système neuro-végétatif peut agir à la fois directement sur les vaisseaux et les cellules d'exécution par les terminaisons cellulaires et indirectement par les neuro-hormones de transmission sur les mêmes vaisseaux et cellules d'exécution; la localisation de ces centres régulateurs serait dans le diencéphale (STIEFFER cité par DESAUX, 1953).

Après exposition du thorium X, PECK et BLOCH ont constaté que toutes les cellules de la couche germinative poussent des prolongements rameux et deviennent dendritiques; on sait que les cellules dendritiques présentent une hyperproduction d'oxydases (dopa-oxydase) constituent la forme la plus active des cellules basales.

PERUTZ (1934) ayant provoqué une lésion chirurgicale expérimentale du diencéphale chez le lapin, a observé outre des troubles lipidiques immédiats, un ralentissement de la croissance pilaire. Ce qui confirme l'observation de HOFF (1937) qui rapporte des cas d'alopécie totale provoquée par

des lésions diencephaliques.

Nous retrouvons encore le problème de contrôle mitotique par action du système nerveux central, à travers les travaux de SMITH SAALFELD cité par DESAUX 1953. L'auteur a montré l'action freinatrice du sympathique sur les mitoses du bulbe pileux : après section du sympathique cervical, se manifeste une croissance exagérée des poils de l'oreille correspondante de l'animal opéré. DARGENT (1941) à la suite d'une stellectomie gauche observe, chez l'opéré, en plus des phénomènes habituels intéressant l'oeil et les paupières, une prolifération anormale de la moustache, des sourcils et des cheveux du côté opposé, au point que les cheveux de la région temporale gauche arrivaient à recouvrir l'oreille et que le sujet devait s'épiler la paupière supérieure gauche sur laquelle proliféraient de longs poils entre cils et sourcils.

Récemment, BALUS (1961) apporte une démonstration éclatante des corrélations entre le système nerveux et les mitoses du bulbe pileux chez les lapins. L'auteur mesure le taux de croissance des poils sur une peau dénervée, épilée, en comparaison avec une peau témoin épilée, mais non dénervée. La dénervation se fait par 2 incisions perpendiculaires et arrachage de la peau, puis suture. Dix jours après, on épile cette peau dénervée et une surface de peau témoin du côté opposé par application d'une pâte au sulfite de barium. On compare la poussée des poils 15 jours plus tard, et l'auteur insiste sur le fait qu'après ce temps total de 25 jours, il n'y a pas de régénération nerveuse, phénomène visible seulement au bout de 60 jours. Sur la peau dénervée, ce qui correspond à la sympathectomie, les poils poussent beaucoup plus vite que ceux de la peau témoin non dénervée. Cela prouve que le système nerveux sympathique joue un rôle inhibiteur dans l'activité mitotique dans les bulbes pileux.

Est-ce pour cette raison que dans les cultures de tissus en vue de l'établissement de caryotypes, on arrive à obtenir des mitoses très rapides avec des cellules séparées : leucocytes du sang, exempts d'innervation (HUNGERFORD, 1959). La méthode de LEJEUNE (1960) qui utilise l'aponévrose périmuculaire innervé donne des chromosomes moins cassants, mais a l'inconvénient de présenter au début une multiplication cellulaire très ralentie.

COUJARD (1957) pense que la stimulation et l'inhibition sont les deux modes d'action de la régulation neuro-végétative de la croissance et de l'équilibre tissulaire. Il ne faut pas transposer à ce système, certainement en perpétuelle régénération dans les plexus terminaux, les notions rigoristes que nous nous faisons du système nerveux central; les tissus terminaux se dégradent et leur innervation sympathique avec eux.

Le réseau sympathique imprégné à l'osmium-iodure s'étend jusqu'à l'épithélium où il pénètre entre les cellules. Une notion importante qui ressort de cette particularité anatomique c'est qu'il est fort difficile de priver les tissus de leur sympathique à cause de nombreuses cellules intrinsèques et de leur cortège de cellules interstitielles.

CHAMPY en 1922 a défini la notion de "sensible locale". En étudiant l'action de l'hormone thyroïdienne sur les têtards de grenouille, cet auteur a démontré que l'hormone détermine des phénomènes de croissance localisée à des zones bien délimitées dans l'organisme, à l'exclusion des autres. Mais, c'est SAND, en 1933, qui a repris le problème, chez les cervidés dont les cornes poussent si on ne supprime pas l'hormone avant leur apparition, mais qui, dès qu'elles ont crû une

fois avant castration, repoussent chaque année, avec la taille approximative qu'elles avaient acquise au moment de la castration. Il s'est donc développé en dehors de la corne, un système régulateur de croissance de la corne, qui est extérieur à la cornecelle-même puisque celle-ci tombe annuellement. Ce système atteint une certaine valeur sous l'influence de l'hormone, arrête son développement si l'hormone manque, mais ne régresse plus une fois développé. L'idée de l'intervention du sympathique ou plus exactement de certaines régions localisées de ce système mériterait donc d'être examinée.

On sait, d'autre part, que la spermatogénèse est déterminée par l'hormone gonadotrope de l'hypophyse. Quand on fait une section transversale du déférent (interruption des fibres péri-différentielles allant du ganglion au testicule), avec abouchement à la peau du bout testiculaire, la spermatogénèse s'arrête. Au contraire, une fistule analogue faite en fendant longitudinalement le déférent, ce qui lèse un minimum de fibres nerveuses, n'arrête pas la spermatogénèse. La section du déférent avec suture à l'autre pôle du testicule arrête temporairement la spermatogénèse qui reprend ensuite en commençant par le point de réimplantation à partir duquel les fibres sympathiques se régénèrent.

On peut admettre avec COUJARD (1957) que l'influence régulatrice du sympathique est prépondérante au moins chez les vertébrés, et qu'il est surtout et avant tout un système trophique. Il existe des fibres sympathiques dans divers organes où elles n'ont pas de rôle fonctionnel, comme dans le muscle strié où la présence incontestable de fibres sympathiques montrées par BOEKE (1938) a paru si paradoxale aux physiologistes; ils ne leur trouvent aucun rôle dans la contrac-

tion. L'abondance du sympathique dans l'épiderme serait un paradoxe du même ordre si l'on n'avait pas parlé de son rôle plus haut.

MAILLET (1957) dans ses études sur l'innervation sympathique du rein, a constaté une augmentation de mitoses à la suite de la phénolisation du pédicule rénal et de l'implantation de plastique dans le diencéphale, chez le cobaye.

COUJARD (in THOMAS 1959) a décrit le retentissement histologique à distance de lésions limitées du sympathique périphérique; cette étude montre des retentissements immédiats, tardifs observés au niveau de très nombreux organes.

Les travaux de JOST (1956) sur la croissance harmonieuse intra-utérine des foetus de lapins décapités jettent certains troubles dans nos bases de discussion. L'auteur a démontré que cette croissance foetale avant la différenciation des glandes endocrines ne dépend pas des hormones foetales. Elle ne dépend pas non plus de l'hormone de croissance maternelle qui n'a pas pu traverser le placenta. Pour notre part, nous avons démontré que l'extrait de cerveau de souris normale isologue n'a pas d'action sur l'hypertrophie rénale compensatrice.

Il y a lieu de comprendre que la croissance du foetus décapité est une croissance extracellulaire, selon l'expression de HELMUT (1960) dépendant de l'action de régulation de l'exé cérébrospinal foetal, en l'absence de son encéphale.

Les troubles de régulation de croissance des tissus et organes qui s'observent après lésions du sympathique péri-

phérique, comme le rôle à distance du diencéphale dans les croissances cellulaires normales, ne sont pas des faits isolés; ils s'unissent aux notions anciennes pour établir l'importance du sympathique dans le trophisme et la régulation terminale de croissance.

C'est pour ces multiples raisons que le déterminisme de l'HRC est intimement lié à la régulation neurovégétative d'une "zone sensible locale", car au terme de son hypertrophie compensatrice, l'organe est encore capable de refaire indéfiniment d'autre HC si on le met à nouveau : MOBERG (1936) sur le rein hypertrophié, HARBANLESS (1952) sur le foie hypertrophié.

b/ Substances humorales du système nerveux végétatif
(liaison allant des centres nerveux au rein).

Les sécrétions humorales du centre nerveux végétatif sont connues depuis plus de 20 ans et les récents progrès en microscopie électronique et microneurochimie ont contribué à éclairer sur leur mode de liaison avec la périphérie.

Roussy et Mosinger, cités par ROGER (1939) ont montré depuis 1938 que le bloc hypothalamo-hypophysaire est capable de sécrétion humorale.

- à la fois du type hémocrine intravasculaire
- et du type neurocrine intra-nerveuse par les voies d'hydro-encéphalocrinie et méningocrinie influençant l'ensemble du neuraxe.

En 1956, YOUNG rapporte ces faits expérimentaux concer-

nant la fibre nerveuse :

- après une section d'une fibre nerveuse des modifications se produisent à l'intérieur du corps cellulaire où se déclenche un processus actif de synthèse protidique permettant la régulation de la fibre nerveuse

- si on isole complètement des cellules nerveuses, on peut parfois observer pendant quelques heures des signes de mouvement de la substance de Nissl du corps cellulaire vers l'axone.

- la fibre nerveuse géante de calmar ou de sèche présente de faibles traces de striations longitudinales, capables de se réunir pour former des striations (fibrilles) plus apparentes. De tels aspects indiquent la présence de molécules capables de former de longues particules. SCHMITT (1950), PALAY (1955) ont vu au microscope électronique de minces fibres de 6 à 10 milli-microns de diamètre, de longueur indéterminée.

- dans un petit nombre de cas, les fibres nerveuses semblent fonctionner principalement par transport de signaux chimiques sur toute leur longueur. On trouve de tels granulés de neuro-sécrétion dans les fibres qui innervent la glande pituitaire des vertébrés.

Rita LEVI-MONTALCINI (1961) a fait la mise en évidence d'une substance secrétée par les ganglions et les nerfs sympathiques des mammifères : souris, rat, chat, boeuf, ainsi que l'homme. C'est une substance non dialysable, thermostable, alcalino-résistante (1 heure dans la soude 0,1 N), ne précipitant pas par la streptomycine, présentant une absorption maximale à 280 millimicrons.

Cette substance augmente quand la synthèse des protéines dans les cellules nerveuses augmente et vice-versa.

HOLGER-HYDEN (1962) spécialiste des micromanipulations biochimiques et des micro-radiographies quantitatives de la cellule nerveuse, a utilisé des appareillages électroniques branchés entre l'image de la neurone et une machine à écrire qui inscrit des résultats analytiques des 12.000 aires de 3 microns-carré de la microradiographie de la cellule nerveuse.

L'auteur est arrivé à ces conclusions :

1. Il n'y a pas d'espace extra-cellulaire dans le système nerveux central.

- les modifications biochimiques dans la névroglie étaient inverses de celles du neurone concernant l'ARN, les enzymes respiratoires, les besoins énergétiques

- les enzymes endo et ecto ATPase règlent l'activité de la pompe à Na^+ et K^+

- l'utilisation de la tricyano-aminopropène (triap) à effet antithyroïdien a montré que le changement de composition de l'ARN lors des influx consiste en un changement du rapport guanine/cytosine. Ceci montre que les activités synthétiques sont liées entre le neurone et sa névroglie jusqu'au niveau moléculaire.

- il y a symbiose marquée entre la névroglie et son neurone.

Récemment MAMO (1962) dans ses études sur la mémorisation qui est la conséquence de l'information neuronale, rapporte

les faits suivants :

- On distingue 2 étapes dans la mémorisation :

1°/ une phase d'acquisition ou phase physique qui est un processus purement électrophysiologique. En HRC, il est clair que cette 1ère étape est définitivement acquise dès la néphrectomie et l'information neuronale permanente de provenance du pédicule rénal sectionné et une des plus solides dans la mémorisation.

2°/ une phase de stockage ou phase biochimique qui est un processus biochimique aboutissant à une codification structurale capable de restituer à tout moment des conditions qui ont déterminé sa formation.

- la 1ère phase ou codification structurale des cellules nerveuses est mise en évidence par l'étude des foyers épileptiques "en miroir" et de leurs caractéristiques expérimentales.

On sait que lorsqu'il existe un foyer épileptique dans le lobe temporal, il apparaît quelques semaines après, un 2^e foyer sur le lobe temporal controlatéral, symétrique du précédent. Le 2^e foyer semble être la conséquence d'un bombardement incessant d'une population neuronale du lobe temporal sain par les influx pathologiques du foyer comital opposé. La section du corps calleux, si celle-ci s'est réalisée avant la création du premier foyer épileptogène, empêche l'apparition du 2^e foyer (MORRELL 1960). Le foyer en miroir nous laisse comprendre non seulement qu'il sait apprendre à être épileptogène, ou qu'il avait été épileptogène

- La 2^e phase biochimique de stockage de la mémorisation est une phase de codification moléculaire particulière dépositaire de l'information. Ce corps chimique est l'ARN démontré d'après les études sur les processus de mémorisation génétiques et immunologiques. On a noté qu'il existe au niveau du tissu cérébral "en miroir" une quantité plus élevée d'ARN qu'au niveau du tissu cérébral normal.

Selon CLEES (1952) le contenu de la mémoire est stocké quelque part dans les cellules nerveuses. C'est donc une molécule matérialisée et non un circuit oscillant neuronique mémorial selon les anciennes théories d'Eccles.

- Pour démontrer cette hypothèse, l'auteur a dressé des singes jusqu'à ce que l'EEG montre de nombreuses petites ondes. Sous anesthésie, l'électro-encéphalogramme se transformait donnant quelques ondes larges. Les animaux furent hibernés à - 18° C, l'EEG tombe à zéro, réduit à une légère droite tremblotante. Réchauffée et réveillée, les animaux se montrèrent parfaitement aptes aux performances de naguère. Les circuits oscillants d'Eccles avaient pourtant été rompus pendant que le tracé EEG était annihilé.

Pour se faire une idée du mécanisme de l'action trophique il fallait se demander comment un nerf peut influencer les tissus de la région à laquelle il se distribue. Cela peut être la conséquence d'un effet physique par le moyen de la dépolarisation qui court le long du prolongement nerveux et celle d'une action chimique. On découvrit entre 1904 et 1930 que des substances étaient libérées par l'excitation des nerfs à leur terminaison; ces substances diffèrent dans les

E.E.G. : électro-encéphalogramme.

tissus et ont une action analogue à celle qui produit l'influx nerveux : acétylcholine. Pour ne pas opter l'hypothèse de l'acheminement des protéines depuis les centres végétatifs jusqu'aux terminaisons nerveuses, rien ne nous empêche d'admettre avec L EUSEN (1961) que la composition qualitative des amines simples est une explication du recodage à la terminaison nerveuse de la protéine mémoriale existante dans les centres végétatifs. Nous n'avons pas de preuve formelle concernant ce recodage de protéines mémoriales sur les terminaisons nerveuses mais nous avons vu que :

D'une part, Rita LEVI-MONTALCINI (1961) a montré l'existence de la substance protéinique sécrétée par les terminaisons nerveuses chez les mammifères.

D'autre part, GLEES (1952) a montré la fabrication de stock de protéines mémoriales sous l'action de l'acétylcholine. On sait en effet que toute sensation amène un flux d'électrons aux neurones, d'où modifications électroniques à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. Quelques éléments d'acides aminés simples quittent le ribosome et reconstituent la chaîne protéique sous l'égide de l'ARN soluble. Il subit donc un changement qualitatif qui est spécifique de la nature du stimulant. Les protéines mémoriales se désintègrent avec le temps en de petits fragments et activent l'acétylcholine qui est une substance transmetteuse. Celle-ci à son tour met en branle toute une chaîne de neurones : la mémoire travaille et renouvelle ses protéines désintégrées. Des neurones possédant une information imprimée ne peuvent plus l'effacer et rien d'autre ne peut être surimprimé.

c/ Information des Centres (liaisons allant du rein au système nerveux)

Signalons qu'il est prouvé que la blessure par l'action

des influx nerveux, informe le diencephale et provoque par là une augmentation du taux de cortisol, C'est bien l'action des nerfs périphériques qui détermine la sécrétion de cortisol et non l'existence des hormones de blessure (Egdahl 1960).

YATES (1962) soutient le point de vue du rôle des facteurs diencephaliques qui secrètent le CRF (corticotropin-releasing factor ou facteur libérant les corticotropines) agissant sur l'hypophyse et celle-ci pourra alors libérer l'ACTH. L'action de l'ACTH sur le cortex surrénal générateur de cortisol est contrebalancée par un feed back bien connu (Fig. 51).

YATES (1962) confirme le point de vue d'EGDAHL : la sécrétion de cortisol est mise sous la dépendance du CRF à travers l'ACTH, elle est tributaire directement des influx nerveux de la liaison neuronale Peau-Diencephale. Une blessure déclenche par la voie neuronale une libération de cortisol, cette libération étant inhibée si une injection de cortisol a été faite avant la blessure. C'est l'influx nerveux qui conditionne la sécrétion de cortisol et il est confirmé qu'il n'y a pas d'hormone de blessure ("no wounder hormone").

Et il n'y a rien d'étonnant de comprendre d'après ce qui précède que l'information "espace occupé" entre Rein et Diencephale correspond de même à la section du pédicule rénal.

5/ ACTION NUCLEO-CYTOPLASMIQUE RETROGRADE

L'HRC est la conséquence du raccourcissement de l'interphase des cellules rénales. Ce raccourcissement de l'interphase est manifestement lié à l'action nucléo-cytoplasmique critique. On sait qu'il existe un rapport nucléo-cytoplasmique

critique; une certaine augmentation du cytoplasme pourrait être considérée comme le facteur qui déclenche la mitose.

GLINOS (IN THOMAS 1959) a étudié l'influence des fonctions du cytoplasme sur le noyau pendant la croissance du foie. L'auteur démontre que "cette réponse rétrograde à des stimuli de croissance du milieu ambiant n'est pas limitée aux organismes unicellulaires. Chez le rat, 30 minutes après hépatectomie partielle, l'organisation de la ribonucléoprotéine cytoplasmique des cellules du foie commence à se modifier pour prendre la forme caractéristique des cellules en train de synthétiser activement des protéines". En utilisant des précurseurs marqués dans les protéines, il a démontré que l'ARN cytoplasmique radioactif est décelable 6 heures après. La synthèse de l'ARN nucléaire radioactif apparaît 12 heures plus tard, celle de l'ADN après 18 heures et la mitose à la 24ème heure. L'auteur a ajouté que cette réponse est suscitée par la diminution d'un facteur inhibiteur de la croissance qui est à l'état normal présent dans le sérum et le liquide interstitiel du foie. Ces faits confirmés par de nombreux auteurs (NAHORA 1957, KOHN 1958, SMYTHE 1958, STICH 1958) rejoignent celles de WEISS (1958) et d'OSGOOD (1959) que nous verrons dans le prochain chapitre : Interprétation Générale.

6/ PROBLEME DE CELLULES SOUCHES :

Faut-il admettre que le rein dispose de cellules-souches comme on en connaît au niveau du testicule par exemple; et se poserait alors l'irritante question de savoir ce qui sépare la cellule-souche conservatrice des potentialités "juvéniles" et la cellule adulte différenciée et fonctionnellement

valable ? Et il est opportun de se référer aux travaux d'OSGOOD, pour répondre à cette question.

La régulation de la population cellulaire (travaux d'OSGOOD 1959) :

Cet auteur distingue 2 sortes de régulation :

1°/ La régulation principale : qui contrôle la croissance de la population cellulaire par des actions géniques. La prolifération est réglée par un feed-back caractérisé par le rapport n/α où selon la terminologie d'Osgood :

n = nombre de cellules adultes différenciées

α = nombre de cellules souches

Les cellules n secrètent une substance inhibitrice spécifique contre la division ($\alpha + n$) pour maintenir fixe le rapport n/α qu'on observe dans chaque lignée cellulaire.

Il importe de signaler que la division ($\alpha + \alpha$) ne peut exister que chez le foetus, et que la production d'inhibiteurs est analogue à la production de facteurs nécessaires dans l'entogénèse ou dans l'embryogénèse. L'altération du matériel génétique d'une lignée α conduit à la perte de la descendance et conduit au développement des cellules malignes.

La régulation principale de la population cellulaire dépendant du matériel génétique semble correspondre à la première portion de notre courbe de vitesse d'HRC que la réserpine est incapable de modifier, car elle est placée sous la dépendance nucléaire et non diencéphalique.

2°/ La régulation secondaire dépend des conditions chimiques ou physiques qui asservissent le tissu. Celles-ci conditionnent l'hypoplasie, l'atrophie d'une part, l'hyperplasie, l'hypertrophie d'autre part. L'auteur a signalé qu'elles dépendent de multiples facteurs, notamment : le système nerveux, des réactions antigènes-anticorps, etc.... ce qui corroborent nos points de vue concernant le rôle des facteurs immunitaires et celui des facteurs nerveux.

7/ LE PROBLEME CONNEXE DE LA REGENERATION

Dans la régénération, il y a non seulement multiplication cellulaire, mais disposition spatiale particulière et différenciation cellulaire, à partir d'un bourgeon indifférencié.

- Mlle LOCATELLI (1925) a étudié chez les tritons la régénération des membres; il n'y a guère que chez les tritons que cette régénération soit facile à suivre; non seulement la queue repousse, mais aussi les pattes entières. La régulation de cette régénération est due au système nerveux. Si, avant de couper un membre, on dissèque son nerf sciatique, et qu'on le retourne dans une région aussi éloignée que possible de la racine du membre, il se développe à l'extrémité du nerf un membre, imparfait sans doute (parce que beaucoup de fibres ont été coupées lors de la dissection), mais très reconnaissable avec ses divers tissus. La section des racines n'empêche pas le phénomène, ce qui fait que LOCATELLI l'attribuait aux ganglions spinaux.

Lorsqu'on ampute un membre susceptible d'être régénéré, il se forme d'abord, au niveau du moignon, un tissu indifférencié qui croît confusément, se régularise et se différencie

à mesure qu'il est envahi par le système nerveux; il s'arrête de croître quand il a retrouvé un équilibre voisin de l'équilibre antérieur. C'est bien le système nerveux qui règle le phénomène et non la localisation embryologique du tissu qui croît.

- L'hypertrophie compensatrice de la pince du crustacé *Alpheus* reportée par ABELOOS (1948) offre un exemple frappant de la régulation, phénomène à cheval sur la régénération et l'hypertrophie compensatrice, ce qui nous permettrait de faire cette hypothèse : l'hypertrophie compensatrice est de la régénération dégradée. Chez *Alpheus*, l'une des pinces, tantôt la droite, tantôt la gauche, est beaucoup plus développée que l'autre. Si l'on ampute la grosse pince, il se régénère à sa place une pince de l'autre type, tandis que la petite pince, qui n'a pas été touchée, se développe en une grosse pince. La grosse pince exerce donc normalement une action inhibitrice sur la croissance de l'appendice symétrique. Son amputation fait cesser l'inhibition et permet à la petite pince d'acquieser son plein développement. Devenue grosse, celle-ci inhibe à son tour le développement de l'organe symétrique en régénération. L'asymétrie normale se trouve rétablie mais inversée. Des travaux récents sur l'étude quantitative de la régénération caudale, avec ou sans moelle épinière, chez la salamandre (KIORTSIS 1959) montrent qu'en cas de despinalisation, la queue se régénère moins vite.

- Les grenouilles, qui ne régénèrent pas normalement leur membre amputé, peuvent le régénérer quand l'amputation est suivie d'innervation et plus l'augmentation d'innervation est grande, plus la régénération est grande (SINGER 1954).

- BARMAOR (1961) a fait une tentative pour provoquer la régénération du membre antérieur chez le jeune rat, grâce à l'augmentation de l'innervation. Les résultats sont moins nets.

- Plus on monte dans l'échelle des vertébrés, plus la régénération est difficilement réalisable. Par contre, elle est facile chez les invertébrés et, à ce propos, rappelons les travaux de LENDER (1950, 1955) et les interprétations de l'auteur qui risquent de nous être instructives.

a/ LENDER a montré que la régénération se fait par interférence de 2 facteurs : la zone compétente et le centre inducteur qui secrète une organisine diffusant dans une certaine zone de la planaire, constituant le champ d'action du centre. Dans le cas de la régénération de l'oeil à partir d'une greffe du bord oculé, le centre inducteur est le cerveau. L'organisme est soluble dans l'eau. Elle diffuse au travers des parenchymes; en greffant un cerveau dans la zone caudale, on peut y obtenir la régénération des yeux, par transplantation d'un territoire réceptif compétent. Il a montré, en outre, que l'on peut dans certains traitements obtenir des solutions inductrices à partir de broyats de queue primitivement inactifs; soit qu'on libère l'inducteur, soit qu'on supprime un inhibiteur qui s'opposait à son effet.

b/ Etudiant par ailleurs la régénération de la tête chez des planaires décapités, LENDER constate que le blastème de régénération s'édifie par accumulation de néoblastes, puis il y a régénération des divers tissus et enfin du cerveau, par auto-différenciation. On a la reconstitution de la tête en 7 jours. Quand le cerveau est différencié, il secrète des substances inhibant la formation d'autres têtes cérébroïdes.

Donc, conclut LENDER, ce sont les équilibres entre les inducteurs et inhibiteurs solubles et diffusibles qui permettent d'aboutir à un animal normal, qui règlent de même les types de régénération chez la planaire. Pour lui, il y a de grandes analogies entre les inducteurs de la régénération et les organisateurs qui interviennent dans l'ontogénèse, autrement dit, la régénération fait partie du développement de l'oeuf, c'est-à-dire d'une cascade d'inductions successives. Ainsi, si nous comprenons que la régénération est de l'Induction dégradée (celle de SPEMAN 1932), il y aura lieu de comprendre que l'hypertrophie compensatrice fait partie de la régénération = c'est la régénération dégradée.

8/ LE PROBLEME DU DEVELOPPEMENT DE L'OEUF FECONDE

Il reste la question de multiplication cellulaire dans l'oeuf fécondé avant l'apparition du système nerveux et dans les tubes de culture. Le mécanisme de commande ne peut se trouver que dans la cellule elle-même au niveau des chromosomes. C'est une endocroissance, selon le terme de HELMUT (1960) et nous sommes alors reliés à l'avis de STERN-HEBERT (1962), selon lequel il doit exister une paire de chromosomes de croissance, comme il existe des chromosomes sexuels XY et un chromosome surnuméraire 21 responsable du mongolisme.

MONROY (1961) nous conduit plus loin à l'origine de la première mitose dans l'oeuf vierge d'oursin, où l'auteur a démontré l'existence d'un facteur inhibiteur de la cytochrome oxydase dont l'activité diminue rapidement après la fécondation (MAGGIO 1959). Quoique l'identification chimique de l'inhibiteur n'ait pas encore été accomplie, on a pu démontrer qu'il s'agit d'une substance à poids moléculaire bas et sans azote : les groupements -SH semblent jouer un rôle

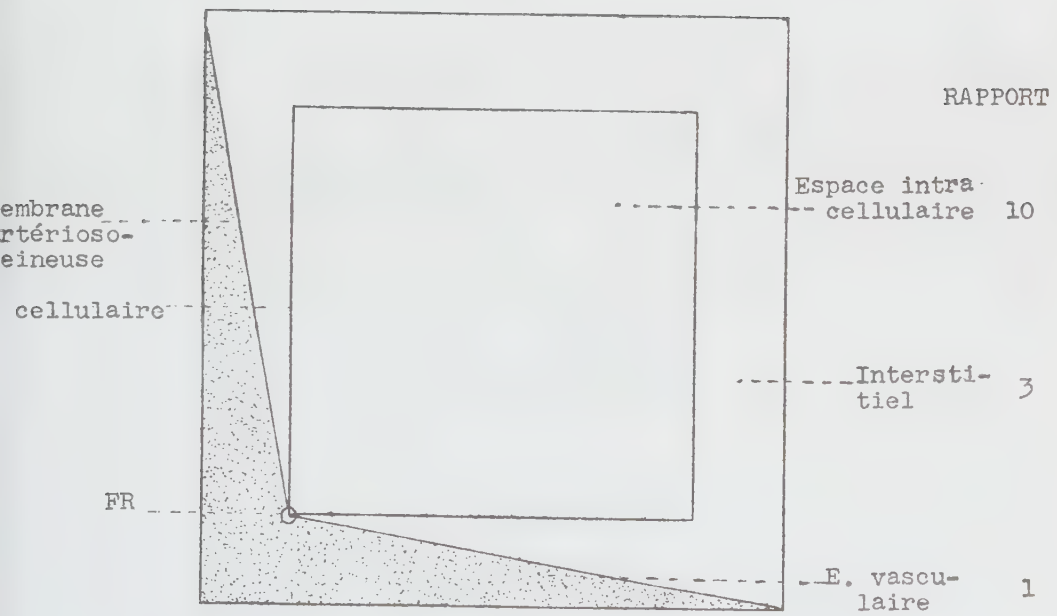
essentiel dans son activité; sa capacité est du type compétitif et il agit en inhibant la réoxydation de la cytochrome oxydase (MAGGIO 1960). Il se pourrait bien que l'inactivation de l'inhibiteur soit la cause immédiate de déclenchement de l'activité, auparavant inhibée, du système des transporteurs d'électrons.

En résumé, toutes ces considérations, bien qu'importantes, ne nous ont pas encore placés devant l'intermédiaire biochimique initial, responsable de l'HRC. De même, la régulation n'est possible qu'à un certain stade ontogénique (GALLIEN 1958), la régénération n'est possible que chez certains règnes (LENDER 1950). L'hypertrophie compensatrice n'est possible que sur certains tissus qui possèdent des zones "sensibles" selon le terme proposé par CHAMPY (1922).

En hypertrophie compensatrice, l'organisation de nouvelles cellules, au sein du parenchyme, se fait sans modifier l'architecture pré-existante dans le tissu, c'est-à-dire que chaque zone augmente de taille mais que le nombre d'unités fonctionnelles (lobules pour le foie, néphrons pour le rein) n'augmente pas. Les vaisseaux et canalicules progressent selon le même processus, augmentent de taille sans augmenter le nombre de leurs ramifications (FORTI 1954). Enfin, le tissu conjonctif est le dernier à s'accroître et cette augmentation porte plus sur la zone périphérique qu'interne de sorte que l'organe régénéré est très fragile et friable (HARKNESS 1952).

Fig. 47 bis

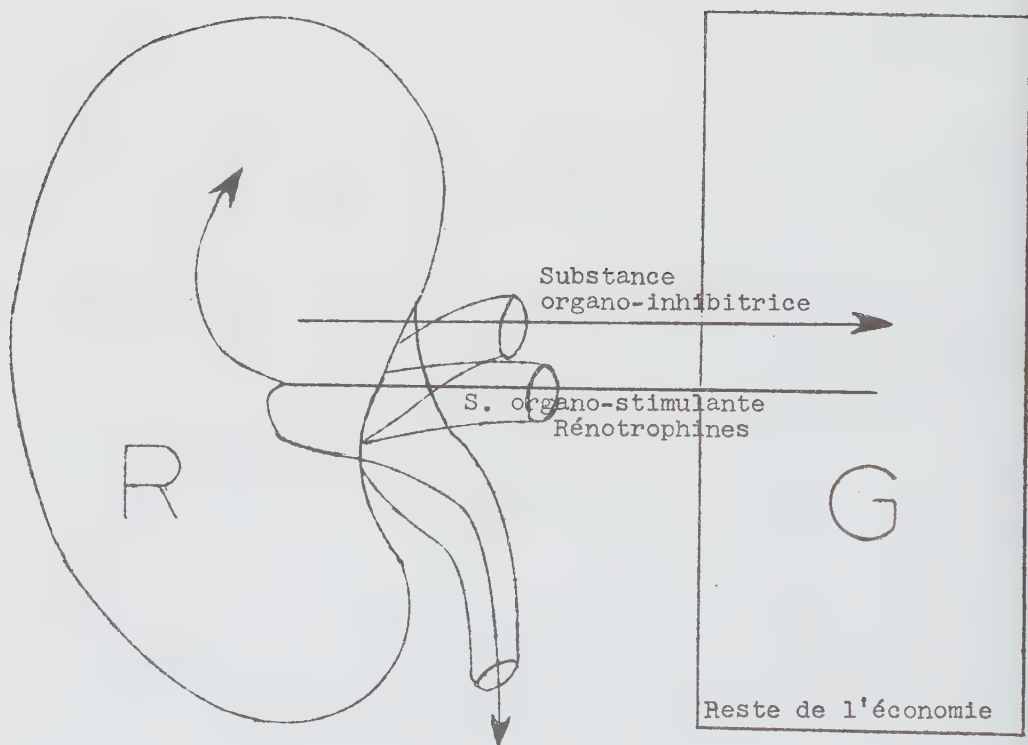
DISTRIBUTION DE L'EAU DANS LE REIN



En HRC " l'urine en formation " envahit les espaces extravasculaires et fausserait les résultats d'études basées sur les critères pondé-
raux.

Fig. 48

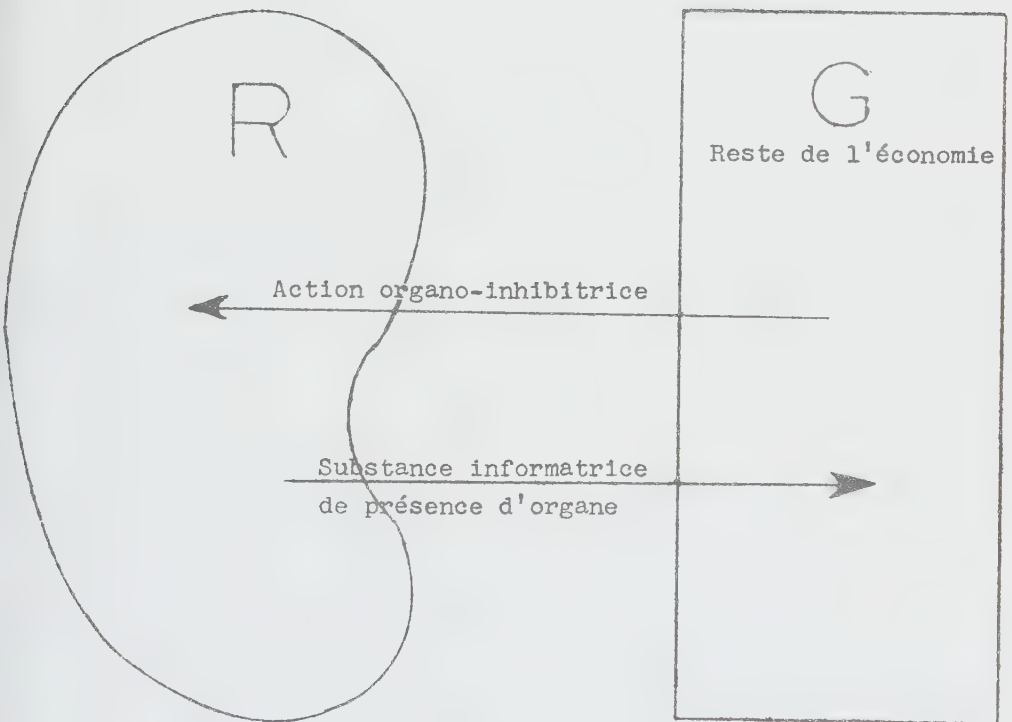
HYPOTHESE D'ACTION DES RENOTROPHINES (Braun-Menendez)



En HRC, la quantité de rénотrophines, devenant trop importante pour le rein restant, serait la cause de l'HRC.

Fig. 49

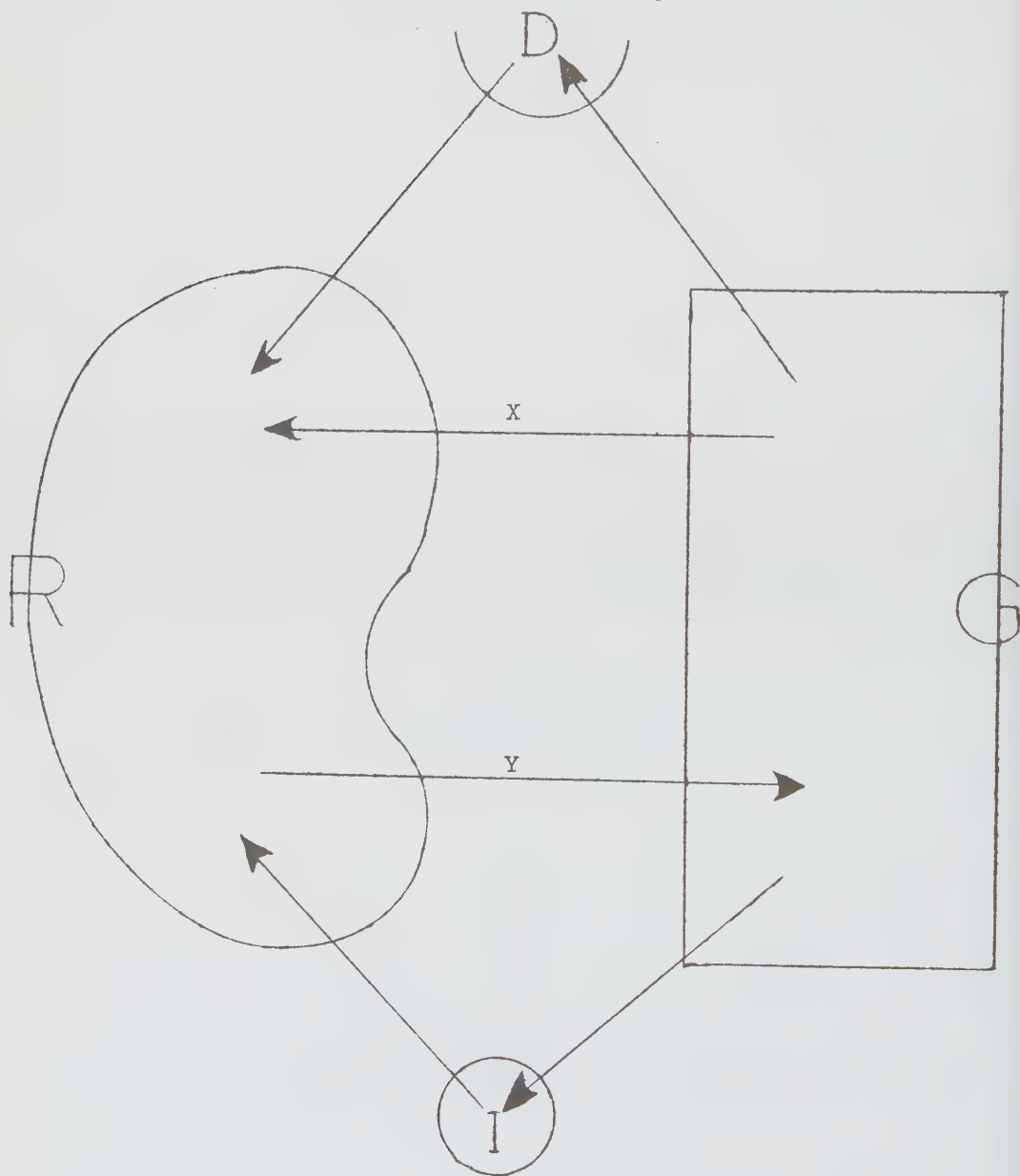
HYPOTHESE D'ACTION ORGANO-INHIBITRICE



A LA NEPHRECTOMIE, IL Y A MOINS DE SUBSTANCE INFORMATRICE,
et conséquent moins de substance organo-inhibitrice, d'où crois-
sance du rein restant

Fig. 50

LIAISONS HYPOTHETIQUES ENTRE R et G
par l'intermédiaire du Diencéphale...



... ou par l'intermédiaire de la population cellulaire "I"

FIG. 51

INFLUX NERVEUX EN DIRECTION DIENCEPHALIQUE ET LIAISON DIENCEPHALO-SURRENALIENNE A TRAVERS L'"AMPLIFICATEUR" HYPOPHYSAIRE

(YATES 1962)

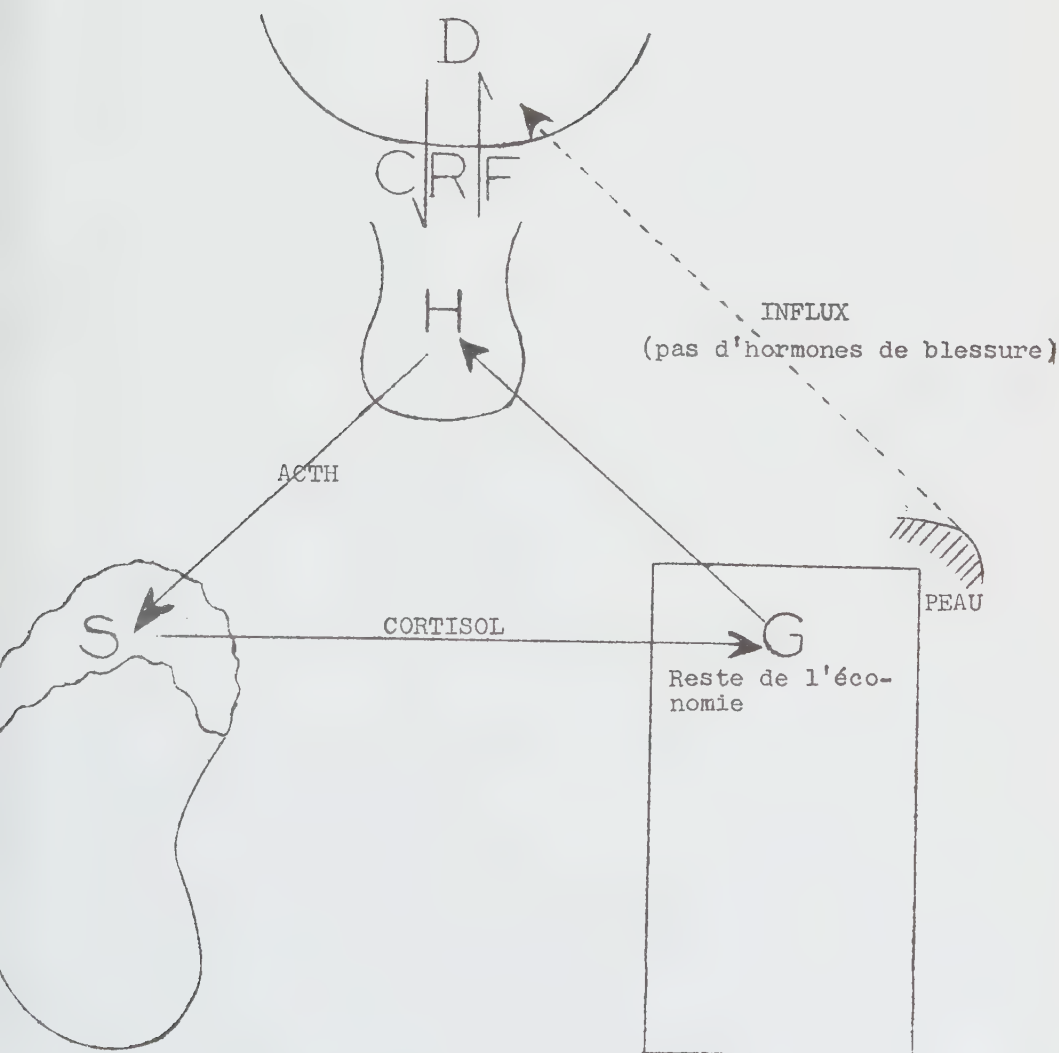
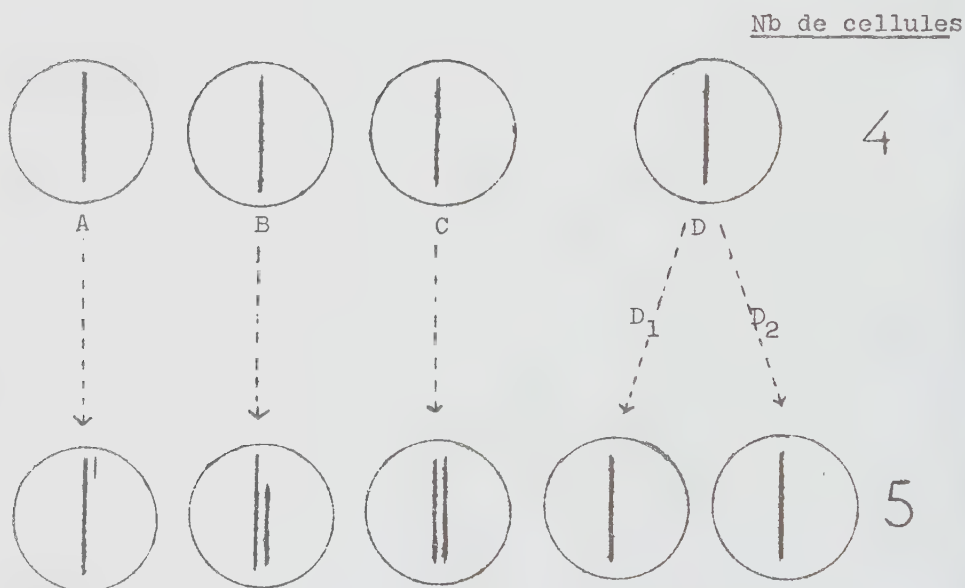


Fig. 52

EXEMPLE DE COMPARAISON D'AUGMENTATION D'ADN PAR RAPPORT A CELLE
DES CELLULES



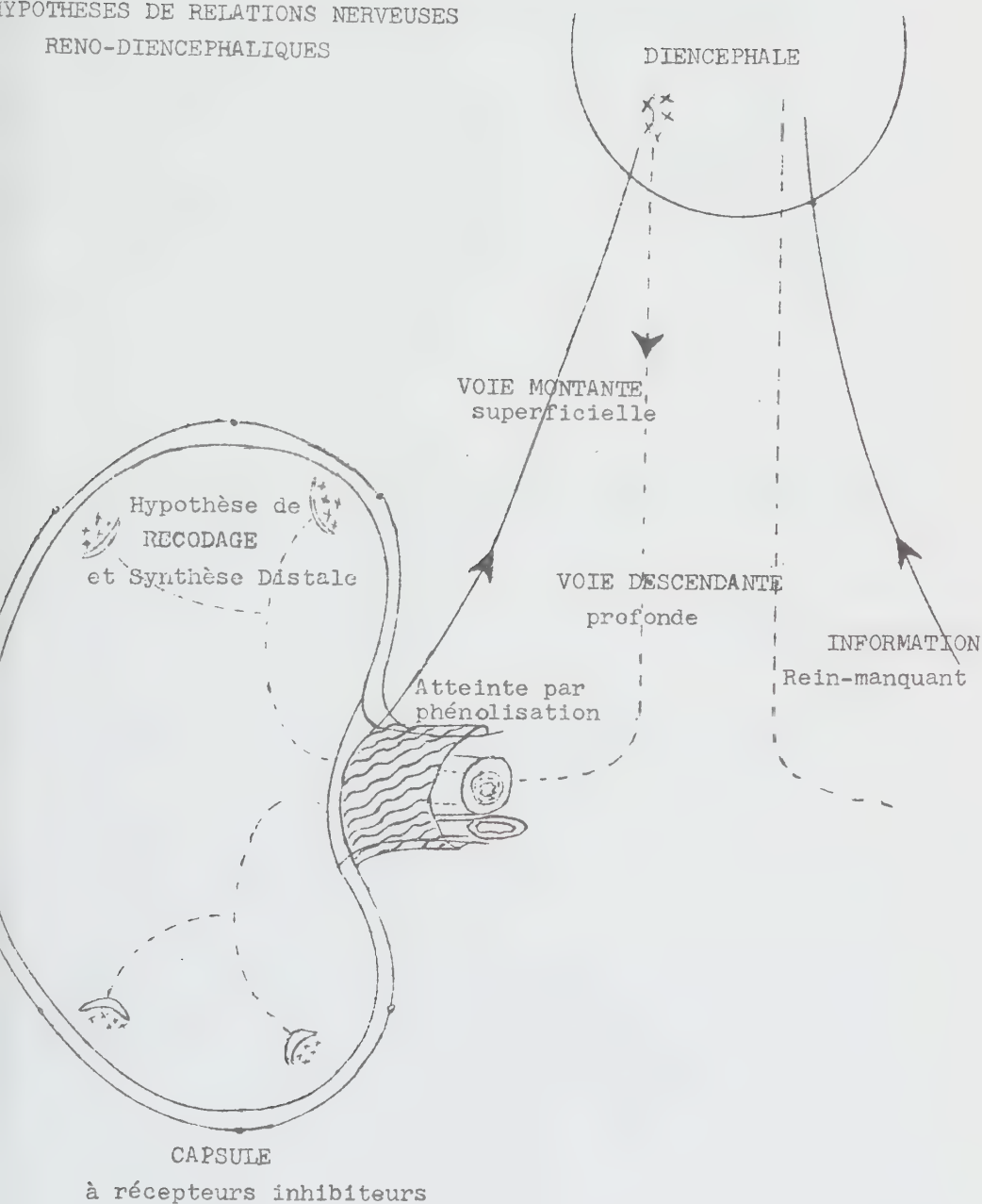
$$\text{Augmentation de cellules} = \frac{5 - 4}{4} = \frac{1}{4}$$

$$\text{Augmentation d'ADN} = \frac{7 - 4}{4} = \frac{3}{4}$$

Donc 300 % en plus que
l'augmentation de cellules

Fig. 53

HYPOTHESES DE RELATIONS NERVEUSES
RENO-DIENCEPHALIQUES



II - INTERPRETATIONS ,GENERALES

A partir de nos résultats expérimentaux et des travaux antérieurs sur l'HRC et la régulation des populations cellulaires, nous allons essayer de faire une interprétation générale, en faisant jouer au rein restant, après néphrectomie unilatérale, un rôle à quatre types de facteurs.

1/ Rôle de facteurs locaux

Selon les concepts de la régulation des populations cellulaires d'OSGOOD (1959, il convient de distinguer ces cas de division cellulaire, en désignant par α la cellule souche, n la cellule adulte différenciée, souvent incapable de se diviser :

- 1er cas : division (α - α) donnant 2 cellules α
- 2ème cas : division (α , n) donnant $\alpha + n$
- 3ème cas : division (n , n) donnant $n + n$

Il existe une constante $C = n/\alpha$ dans un tissu à l'équilibre mitotique. Il est clair que, dans l'HRC, il n'y a pas de division (n , n), car celle-ci est perdue pour la continuité cellulaire, et, bien qu'elle augmente le rapport n/α , elle ne peut que le faire décroître quand la durée T (T = durée de vie normale d'une cellule n de la lignée en question). sera consommée, pour la simple raison qu'il n'existe pas de cellule α .

La division (α , n) accélérée est capable d'augmenter le rapport n/α , tout en gardant la possibilité de le maintenir égal ou supérieur à C . Comme la population totale des cellules du rein en fin d'hypertrophie compensatrice est augmentée de 75 %, on comprend que les cellules α sont exposées à un surcroît de travail de duplication de 75 % au minimum pour maintenir constant le rapport n/α au terme de l'HRC et ce, durant toute la vie de l'organisme, ce qui risquerait d'amener des perturbations fonctionnelles ou cytologiques pour le rein hypertrophié. Or, il a été toujours signalé que celui-ci a un fonctionnement normal et qu'il n'y a pas de perturbations cytologiques au sein de sa structure.

La division (α , α) présente une épargne d'énergie, car une seule division suffit pour doubler la population en cellules α et en cellules n ; de ce fait, le rapport n/α peut-être constant, égal à C , dans un organe hypertrophié, avec une idée d'épargne d'énergie qu'on retrouve dans les phénomènes biochimiques généraux. A l'heure actuelle, où rien ne nous permet de distinguer une cellule α d'une cellule n , dans le rein, avec l'appui des raisonnements précédents, il convient d'admettre qu'il y a dans l'HRC d'abord une seule division (α , α) des 75 % de la population α du "rein restant", pour son hypertrophie, ensuite des divisions (α , n) pour l'entretien de la population cellulaire du rein hypertrophié.

OSGOOD postule que cette population est maintenue constante par la concentration I de l'inhibiteur sécrété par les cellules n , substance qui atteignant le locus récepteur des cellules α de la même lignée inhibe leur duplication quand il y a mort cellulaire du type n , il y a un feed-back

par baisse du taux d'inhibiteur de la division (α , n), division qui pourra alors se faire pour redonner l'équilibre définie par le quotient n/α .

OSGOOD a défini la concentration locale de l'inhibiteur d'une lignée cellulaire comme : $I = t_i/T_i \times n'/n$, où :

T_i est la durée de vie normale de la cellule n

t_i la durée de vie effective

n le nombre de cellules n

n' le nombre de cellules n dont la sécrétion inhibitrice atteint les cellules α

Il est opportun de noter que :

- dans un prélèvement pour cultures de tissu, il doit exister au moins une cellule α pour qu'il y ait formation de colonies, les cellules n initialement présentes sont mortes lorsque le temps T est consommé.

- dans un tissu à l'équilibre mitotique $t_i/T_i = 1$, le quotient I correspond à n'/n , c'est-à-dire la concentration normale de l'inhibiteur.

- dans les néoplasies, la valeur maximale de t_i est toujours plus petite que T_i est le quotient I est toujours plus bas que la concentration normale, d'où prolifération constante par manque d'inhibiteur. Ceci peut provenir d'un taux d'inhibiteur trop faible ou d'une baisse de diffusion de cet inhibiteur. La baisse du taux d'inhibiteur peut provenir de l'altération du locus sécréteur, soit par des moyens chimiques de carcinogénèse, soit par fixation d'une molécule virale désoxyribonucléique, soit par des moyens physiques (irradiation = cassure du matériel génétique). Et il est clair que

l'altération du locus sécréteur chromosomique conduit à la mutation des cellules alpha.

- la division (alpha, alpha) se fait normalement durant toute la croissance foetale (32 divisions) donnant $2^{32} = 10^9$ cellules et participe quelque peu à la croissance post-natale (4 à 5 divisions); elle est rare chez l'être adulte, mais non impossible. Chez l'être adulte, elle sert à remplacer les pertes de cellules alpha et, à notre avis, jouer un rôle très probable dans l'HRC ou d'une manière générale à l'hypertrophie compensatrice et la régénération. En effet, en une seule division, elle double la population de la lignée cellulaire et assure ainsi une épargne d'énergie biologique.

- la difficulté d'études de prolifération cellulaire (difficile à cause principalement de la migration cellulaire au sein du tissu et la croissance normale du tissu) est supprimée par notre méthode qui procède par prélèvement entier du rein et qui étudie l'HRC, au bout de 3 jours, temps qui correspond au 100^e de T : nous avons vu, en effet, que la durée interphasique dans le rein normal est de 228 jours. Comme nos erreurs sont de l'ordre de 10^{-2} , il n'est pas possible d'espérer faire cette étude d'une manière plus rapide tant que le problème de la réduction des erreurs n'est pas résolu.

En résumé, d'après WEISS (1958), OSGOOD (1959), BULLOUGH (1960), le contrôle ultime de la croissance tissulaire réside dans le matériel génétique de la cellule, soumis à la production d'inhibiteurs analogues à la production des facteurs nécessaires à l'ontogénèse et à l'embryogénèse. Et l'on comprend que la croissance est sous la dépendance génique locale des cellules alpha, qui sont capables de déterminer le taux des

cellules alpha et n par les divisions (alpha, alpha), (alpha, n). Ils dirigent non seulement la création des masses protoplasmiques, mais encore les compositions du liquide extracellulaire et les sécrétions cellulaires diverses : collagène, cartilage, etc... et à forte chance les mécanismes de morphochoresis de la gastrulation, selon leur trajet liquidien dans l'espace extracellulaire de l'embryon.

Toutes ces considérations semblent plaider à l'encontre de nos résultats expérimentaux qui font jouer un rôle différent au rein hypertrophié, soumis, selon nous, à des facteurs non locaux. Nous croyons qu'il y a lieu, en effet, de distinguer :

a/ La régulation principale de la croissance qui dépend des facteurs locaux, c'est-à-dire de la sécrétion de l'inhibiteur des cellules n du rein restant.

b/ La régulation secondaire de la croissance, qui dépend des facteurs chimiques ou physiques qui asservissent le tissu, dont l'action variable est de provoquer, selon OSGOOD (1959) :

- . soit de l'hypo-sécrétion, l'hypoplasie, l'atrophie
- . soit de l'hypersecrétion, l'hyperplasie, l'hypertrophie.

Ces phénomènes dépendent des hormones de la surface absorbante, de l'histamine, des vitamines, de l'eau, des électrolytes, du régime nutritionnel, de la température, du potentiel d'oxydo-réduction, de la tension d'oxygène, de la tension du CO_2 , du pH, de la lumière, de la circulation lymphatique, de l'apport sanguin, des antigènes, des anticorps, du système

nerveux, etc...

2/ Rôle de facteurs humoraux :

D'après la citation précédente, on est éclairé sur les nombreuses controverses déjà vues en détail dans l'INTRODUCTION de cette présente étude. L'HRC est, en somme, une croissance accélérée de la croissance du rein, dès l'ablation de son homologue, croissance dont la régulation secondaire est soumise à de multiples facteurs interférant avec la prolifération cellulaire. Elle varie, en effet, avec de très nombreux facteurs. Pour déceler ces variations, il s'agit de choisir des conditions expérimentales convenables qui sont, à notre avis :

- le temps d'hypertrophie compensatrice
- le critère de mesure compatible avec la marge des erreurs expérimentales.

Dans notre étude, nous avons vu que la lumière fait varier l'HRC et nous avons fixé notre heure de néphrectomie à 14 heures et nous avons toujours laissé les animaux en expérimentation à une place fixe, pour les laisser sous des conditions d'éclairage identiques. Nous avons soumis nos souris à des conditions normales et identiques de boisson, régime nutritionnel et de température.

Nous avons constaté qu'une diminution d'apport sanguin par ligature partielle du pédicule rénal provoque une diminution d'hyperplasie cytoplasmique et ne modifie pas l'hyperplasie nucléaire, au bout de 3 jours. MANDEL (1955) a montré les mêmes résultats chez le rat en HRC au bout de 15 jours par l'artifice du jeûne protidique.

Nous avons fait involontairement une surcharge en électrolytes pour le rein droit en ligaturant l'uretère du rein gauche et nous n'avons pas constaté une modification de l'HRC au bout de 3 jours pour le rein droit. DEJOURS (1950) a montré que l'HRC augmente très peu avec la surcharge du travail rénal en cristalloïdes au bout de 4 semaines.

Nous avons fait involontairement des injections d'hormones hypophysaires totaux, notamment l'hormone de croissance, lors des injections d'extraits diencéphaliques d'animaux non informés par la néphrectomie, et nous n'avons pas constaté de modification d'HRC au bout de 3 jours. BRAUN-MENENDEZ (1953) a montré que l'hypophysectomie et la thyroïdectomie diminue l'HRC, et a attribué cette diminution à celle de la rénотrophine hypothétique à action organo-stimulante dont il est déjà question dans la Fig. 48.

3/ - Rôle des facteurs immunitaires :

a/ Les anticorps anti-organe : la Fig. 49 a déjà jeté les premières bases concernant l'interprétation de nos résultats expérimentaux en fonction du rôle des facteurs immunitaires.

Nous avons montré que les globulines anti-protéines rénales isologues freinent l'HRC, et que les globulines anti-protéines rénales hétérologues l'augmentent. Nous avons admis que les premières agiraient par blocage de la substance X spécifique de l'HRC, que les secondes agiraient par augmentation de sécrétions cellulaires d'après la loi d'action de masse. De toute façon, ces globulines font agir très probablement leur action par la surface absorbante cellulaire, comme signalé par OSGOOD (1959). Il n'y a aucune raison pour

penser à une action intracellulaires car ces globulines sont des protéines d'espèce différente.

Pour fixer les idées, retenons que :

- les globulines proviennent du lapin (ou chèvre, ou cheval)
- les reins isologues proviennent des souris C57 RCH
- les reins hétérologues proviennent du porc

et les animaux receveurs des injections de globulines sont les souris C57 RCH.

b/ Les autoanticorps vrais : On sait que les globulines sériques d'un animal A, anti-organe B d'un animal C, sont des protéines stables circulants chez l'animal A, et qui, injectées chez l'animal C, exercent leur action par absorption à la surface des cellules de l'organe B. Elles modifient l'HRC. Les anticorps anti-tissulaires furent décelés et étudiés par WITEBSKY (1928); PRESSMAN (1957) a mis en évidence des anticorps-antiorganes hétérologues dans les éluats de broyat de ces organes chez des animaux hétérologues. Mais peu de progrès sont faits dans le domaine structural de ces molécules protéiques, vu la diversité et l'instabilité des protéines tissulaires.

ARDRY, en 1962, a souligné à juste titre l'hétérogénéité physique et immunologique des anticorps anti-tissulaires dans leur comportement vis-à-vis d'antigènes différents et vis-à-vis d'un même antigène d'organe. L'auteur interprète cette double hétérogénéité comme résultant de la nature même des déterminants antigéniques et de l'existence subséquante d'une accoutumance immunitaire chez l'animal (et l'homme)

subissant à des degrés variables un stimulus antigénique continu. Les anticorps antitissulaires (improprement appelés auto-anticorps) sont hétérogènes. Il y a en fait dans le contenu cellulaire de rein de souris au moins 2 protéines que nous pouvons désigner par :

R = la protéine spécifique de l'organe rein

S = la protéine spécifique intracellulaire
de la souris isologue, celle-ci n'est certainement pas la seule.

Une immunisation avec l'antigène constitué par le broyat de rein va engendrer la formation de l'anti-R qui est le vrai auto-anticorps de rein, ainsi que la formation des anti-S.

Dans une étude très fine, ROSE (1962) a montré l'existence en effet de l'anticorps-anti-thyroïde (une seule fraction antigénique décelable par l'immuno-électrophorèse) chez le porc à la suite des injections de thyroïde de porc.

Il est regrettable que ce beau travail ne fut pas fait sur une souche d'animal isologue pour enlever notre entière conviction. En effet, la protéine R peut différer d'un porc à un autre porc homologue. Mais nous reconnaissons que ce travail d'immunisation est un des plus délicats à réaliser. Et nous nous demandons si la protéine R d'une souche de souris isologue pourrait provoquer la formation de l'anti-R chez cette même souche ? Dans le cas affirmatif, deux questions pourraient alors être posées :

- 1ère question : l'anti-R est-il sécrété par les cellules n du rein ?
- 2ème question : Est-il sécrété par des cellules immuno-compétentes ?

On ne peut répondre que par la négative à la 2ème question, car R est une protéine bien connue de la souche, et il faut alors admettre qu'il est sécrété par les cellules n du rein; cette sécrétion correspond à une lutte contre l'existence de R; elle a un rôle inhibiteur contre la lignée cellulaire contenant R et de cette manière, on l'identifie comme inhibiteur des cellules alpha d'OSGOOD.

Une seule vérification permettrait d'établir la validité de cette hypothèse : l'action freinatrice de l'anti-R sur l'HRC. C'est le travail que nous nous proposons de faire, mais l'on sait à l'avance combien il sera difficilement réalisable à cause des résultats aléatoires de l'immunisation, tant que le problème de fabrication d'anticorps in vitro n'est pas résolu.

c/ Les "antitemplates" de WEISS (1958) : WEISS s'oriente déjà dès 1958 vers l'hypothèse immunitaire précédemment évoquée, en postulant que la cinétique de reproduction de chaque lignée type cellulaire est déterminée par un moule (template) qui serait une protéine cellulaire spécifique de la lignée cellulaire. Cette protéine catalyserait les synthèses de la nouvelle masse protoplasmique. Son action est inhibée par l'anti-template sécrétée par les cellules n, diffusible dans l'espace extracellulaire, entrant dans les cellules alpha, se combinant avec les templates. Ainsi chaque lignée cellulaire produit localement son propre inhibiteur de prolifération. Il est opportun de noter en passant que ces antitemplates sont sans action sur les cellules alpha mutées, cellules jouissant d'une indépendance totale de prolifération et génératrices des cellules n mutées incapables de sécréter des inhibiteurs de croissance.

Cette conception corrobore nos résultats expérimentaux et consolide nos raisonnements au point de vue immunitaire :

- l'anti-R serait la substance inhibitrice de la protéine R spécifique du rein,
- elle est sécrétée par les cellules "n" du rein, et elle contrôle la fabrication du protoplasme rénal
- sa suppression correspondrait à la duplication des cellules alpha du rein.

4/ Rôle des facteurs nerveux :

Nous avons vu que les facteurs immunitaires jouent un rôle principal dans l'HRC et nous avons dit précédemment que les facteurs nerveux jouent un rôle de régulation secondaire dans les cinétiques de mitoses étudiées par OSGOOD (1959). Nous avons mis en évidence l'action stimulante de la substance diencéphalique de l'animal néphrectomisé sur l'HRC, et nous avons rappelé les expériences de :

- SINGER (1958) concernant l'augmentation de régénération du membre par augmentation d'innervation chez la grenouille.

- Rita LEVI-MONTALCINI (1961) démontrant que les terminaisons nerveuses secrètent des protéines, dont elle a donné les caractéristiques; ces protéines provoquant la multiplication cellulaire chez les mammifères. L'auteur a souligné que la quantité de ces protéines augmente quand les synthèses protéiques des neurones augmentent.,

Trois questions pourraient être posées :

1ère question : Comment pourrait se faire la voie d'information "montante" allant du rein au diencéphale" ?

a/ La section du pédicule rénal ou la néphrectomie unilatérale signifie la suppression des récepteurs inhibiteurs de croissance, d'où croissance du rein restant. Cette levée d'inhibition serait comparable à celle observée lors de la section du nerf de Hering, suite à laquelle le rythme cardiaque non inhibé s'accélère d'une manière démonstrative.

b/ La décapsulation du rein hypertrophié correspond à une deuxième suppression de récepteurs inhibiteurs de croissance que nous pouvons dire localisés au moins en partie au niveau de la capsule; nous avons démontré que cette décapsulation amène une augmentation supplémentaire de mitoses dans le rein hypertrophié.

c/ La phénolisation du pédicule rénal du rein hypertrophié empêche la propagation des influx nerveux allant du rein ou diencéphale et correspond, de ce fait, à une suppression de récepteurs inhibiteurs de croissance, et nous avons vu que son action est égale à une augmentation d'HRC provoquée par la décapsulation.

On pourrait donc admettre que =

- La voie d'information "rein-manquant" se fait par voie nerveuse,
- ces voies se trouvent à la périphérie du pédicule rénal
- les récepteurs de ces voies sur la capsule rénale
- ceux-ci sont inhibiteurs de croissance rénale.

2ème question : Comment pourrait se faire la voie d'action descendante "allant du diencéphale au rein" ?

a/ A propos de la substance diencéphalique : il existe dans le diencéphale de l'animal néphrectomisé une substance capable d'augmenter l'HRC, car l'extract diencéphalique d'un animal non informé n'a pas d'action sur l'HRC (Fig. 24bis). Son action serait directe sur le tissu rénal : il n'y a pas de relais diencéphalique suite à l'injection (Fig. 42). Cette substance ne préexiste pas, elle prend naissance à la néphrectomie.

b/ A propos de la sécrétion des terminaisons nerveuses

A propos des sécrétions des terminaisons nerveuses, nous retenons les faits et hypothèses suivants :

a) Les monamines périphériques :

On sait que les terminaisons nerveuses secrètent de l'adrénaline, la noradrénaline, la sérotonine, l'histamine, etc... Tous ces corps possèdent la particularité d'être des monoamines à faible poids moléculaires. Ils sont loin de ressembler aux macromolécules protéiques mises en évidence par Rit LEVI-MONTALCINI (1961), mais il n'est pas illogique de former l'hypothèse suivante : la formation de ces macromolécules est subséquente à la sécrétion des monoamines périphériques. Nous avons largement employé la réserpine pour bloquer les monoamines du système nerveux central afin de démontrer le parallélisme entre métabolisme cérébral et synthèse d'ADN rénal, mais comme elle est à la fois mobilisateur des monoamines du système nerveux central et mobilisateur des monoamines périphériques, la question ne peut pas être départagée. Pour répondre à l'hypothèse sus-mentionnée, on pourrait tenter de modifier la courbe d'HRC par l'emploi de la guané-

thidine qui est uniquement mobilisateur des monoamines périphériques.

b) Les vésicules synaptiques :

DE ROBERTIS (1958) a décrit les aspects histophysiologiques de la transmission de l'influx nerveux et a mis en évidence, par des études de microscopie électronique, la structure organisée des vésicules synaptiques. Selon qu'il y a accélération ou freination de libération d'acétylcholine (FAIT 1954), la formation spontanée du potentiel d'influx nerveux est ou accéléré ou freiné et les vésicules synaptiques sont proportionnellement éjectées à travers la membrane synaptique par perforation et leur contenu est répandu dans l'espace interstitiel de la fente synaptique.

Il a été démontré qu'en période d'inactivité, par exemple en adaptation à l'obscurité, les vésicules synaptiques de la jonction des cônes et bâtonnets rétiniens avec les cellules bipolaires sont réduites (DE ROBERTIS 1956). En soumettant l'animal adapté à un éclairage violent et subit, on observe l'éclatement de nombreuses vésicules dans la fente synaptique et le passage de plusieurs d'entre elles dans le cytoplasme post-synaptique (DE ROBERTIS 1958).

On peut se demander si le contenu des vésicules synaptiques de DE ROBERTIS est la substance protéique mise en évidence par Rita LEVI-MONTALCINI, ou simplement une substance intermédiaire conduisant ou la formation des polypeptides actifs, ou à celle de la protéine de Rita LEVI-MONTALCINI ?

c) Polypeptides actifs :

Le mode de formation de polypeptides réglant le contrôle de la pression artérielle offre un exemple utile à notre dis-

cussion (MULLIF 1962). Les polypeptides font l'objet de nombreuses études actuelles : Kallidine I ou bradykinine, angiotensine I et II, etc... L'angiotensine II, polypeptide hypertenseur, est formé par la coupure enzymatique de la rénine (enzyme du foie) sur l'alpha-2-globuline sérique. Si celle-ci a été au préalable tronquée par la trypsine en kallidine I ou bradykinine (polypeptide hypotenseur), on voit que la formation du polypeptide hypertenseur est compromise. Aussi est-elle concevable, l'hypothèse d'action de l'influx nerveux dans la réactivation d'une enzyme rénale, agissant sur les globulines plasmatiques et engendrant un polypeptide actif pour d'autres fins biologiques, notamment la croissance cellulaire.

d) Substance protéique de Rita LEVI-MONTALCINI (1961)

Les faits et hypothèses précédentes ne sont pas controversés; ils peuvent nous conduire à des hypothèses de la substance protéique qui active en fin de compte la croissance tissulaire. Rappelons que, d'une part, nous avons rapporté précédemment les caractéristiques de cette substance et, d'autre part, nous avons admis l'hypothèse d'action de cette substance sur les inhibiteurs de croissance d'OSGOOD ou les antitemplates de WEISS, autrement dit les anti-R de ROSE. C'est donc une activation de croissance tissulaire par levée d'une inhibition spécifique de croissance d'un tissu donné, ce qui permet la croissance de ce tissu et non celle d'un autre.

Comme la distance allant du diencephale au rein est grande, il n'est pas concevable que la substance diencephalique, que nous avons vue active sur l'HRC en agissant directement sur le rein, puisse cheminer le long des nerfs jusqu'au rein.

Il serait plus logique d'admettre l'hypothèse du recodage et resynthèse de certaines protéines diencéphaliques au sein du parenchyme rénal. Cette hypothèse présente les avantages suivants :

1°/ Elle expliquerait pourquoi l'hypertrophie compensatrice existe pour certains organes, mais pas pour d'autres. On parle d'hypertrophie compensatrice du foie, des reins chez des mammifères, mais on ne connaît pas d'hypertrophie compensatrice des membres ou de l'oeil par exemple. De ce fait, on admet difficilement les hypothèses de croissance tissulaire régularisée seulement par des substances organo-stimulantes ou organo-inhibitrices qui deviennent trop ou peu importantes à l'ablation partielle tissulaire, régulation faite sans l'intervention d'un mécanisme intermédiaire nerveux dont l'action est manifeste par :

a. la présence des zones sensibles

b. la génèse d'une substance capable de lever localement une inhibition de croissance du tissu considéré.

2°/ Elle expliquerait pourquoi le rein hypertrophié cesse de croître dès que la masse rénale enlevée est resynthétisée : il y a en effet mémorisation de la masse rénale originelle, autrement dit dès la néphrectomie unilatérale partielle ou totale, le diencéphale connaît déjà le problème de synthèse quantitative qu'il a à accomplir en faveur de la masse rénale restante durant les mois à venir. Ainsi s'explique le problème de l'arrêt de l'HRC, problème qui présente une énigme plus étonnante que l'HRC elle-même.

c/ La phénolisation du pédicule rénal du rein hypertrophié supprime - nous l'avons vu - la voie montante superficielle : d'où suppression possible de propagation de l'in-

formation "rein manquant" au diencéphale, mais elle ne peut guère léser la voie descendante profonde localisée dans l'endothélium des vaisseaux sanguins : d'où retransmission possible du recodage et resynthèse de la protéine nerveuse au sein du parenchyme rénal. Nous fournissons ainsi l'explication de mitoses rénales observées depuis 1957 par MAILLET après phénolisation du pédicule rénal.

On pourrait donc admettre que :

- la substance diencéphalique agissant sur l'HRC prend naissance dès la néphrectomie
- elle se formerait in fine et in situ au niveau du rein par recodage et resynthèse
- sa quantité est ~~parallèle~~ à l'HRC qu'elle doit provoquer
- la phénolisation du pédicule rénal du rein hypertrophié ne lèse guère la voie descendante profonde localisée dans l'endothélium.

3ème question : Quelle relation y a-t-il entre la protéine nerveuse de Rita LEVI-MONTALCINI et l'inhibiteur de croissance cellulaire d'OSGOOD ?

a/ A propos de l'inhibiteur de croissance d'OSGOOD :
Nous avons rappelé précédemment que :

- les cellules α secrètent localement un inhibiteur empêchant les cellules α de se dupliquer au sein d'un tissu normal d'un organisme adulte
- la baisse de cet inhibiteur par hyposecrétion ou par hypoperméabilité des cellules α à cette substance est responsable des duplications cellulaires.

b/ L'anti-R est nous l'avons vu précédemment - de l'inhibiteur de croissance d'OSGOOD, localisé au niveau rénal. En HRC, il s'établit au niveau du rein restant un recodage avec resynthèse de protéine nerveuse quantitativement correspondante à la destruction de 0,75 (anti-R). Cette destruction a pour effet final l'augmentation par des divisions cellulaires (alpha, alpha) du stock des cellules alpha à 1,75 (alpha) dans le rein restant. Cela correspond finalement à une hypertrophie compensatrice de 75 %, le nouveau parenchyme perpétuera, par des divisions de renouvellement normal (alpha n).

c/ En présence de réserpine, mobilisateur des monoamines du système nerveux inhibant de ce fait son métabolisme, il n'y a pas de synthèse de protéine nerveuse; l'anti-R restant intact, l'HRC est, de ce fait, annihilée. Nous notons que entre 0,5 jour à 1 jour après néphrectomie (Fig. 29), l'HRC est indépendante de l'action diencéphalique, elle suit uniquement les lois de régulation locale.

On pourrait donc admettre que :

- la protéine nerveuse de Rita LEVI-MONTALCINI et l'inhibiteur de prolifération cellulaire d'OSGOOD sont antagonistes.
- le blocage de 0,75 (anti-R) conduit à une augmentation du rein restant à 1,75 (alpha)
- la réserpine empêche la synthèse de la protéine nerveuse, et comme l'anti-R reste intact, l'HRC est annihilée, tout au moins à partir de 1 jour après néphrectomie.

CONCLUSIONS GENERALES

Faisons d'abord un résumé synthétique des faits expérimentaux avant d'aborder les conclusions finales :

I - RESUME SYNTHETIQUE

Lorsqu'on fait une mononéphrectomie, le rein restant augmente de volume. Cette augmentation pondérale correspond à une augmentation du parenchyme : il n'y a pas de formation de nouveaux néphrons; les tubules et les vaisseaux augmentent de taille sans augmenter le nombre de leurs ramifications.

C'est un phénomène comparable à l'hypertrophie compensatrice du foie, mais celle-ci se propage plus vite. Si l'HRC est lente, sa régulation fonctionnelle est par contre rapide, grâce à l'existence du 1/3 de néphrons non fonctionnels dans chaque rein. Le rein, comme le foie, cesse de croître quand ils arrivent à la valeur de 80 % de la masse à l'origine. Si on les mute à nouveau, ils ont la capacité de s'hypertrophier à nouveau, et ainsi de suite.

Les résultats des études immunologiques ont démontré l'existence d'une protéine rénale nouvelle X, spécifique de l'hypertrophie rénale compensatrice; celle-ci possède une action stimulante de l'hypertrophie rénale compensatrice.

Les résultats des études physiologiques ont montré que la ligature de l'uretère du rein gauche ne provoque pas de formation d'ARN dans le rein opposé. La ligature partielle du pédicule du rein hypertrophié diminue l'hypertrophie cytoplasmique mais ne charge pas l'hyperplasie nucléaire.

La décapsulation du rein hypertrophié augmente l'HRC ainsi que la phénolisation de son pédicule rénal. Ceci laisse comprendre que les mitoses d'hypertrophie rénale compensatrice sont dûes à la suppression des récepteurs inhibiteurs de la croissance rénale, de nature nerveuse, localisés sur la capsule rénale du rein hypertrophié.

Les injections des globulines anti-rein normal isologue ou hétérologue activent l'HRC. L'injection des protéines cérébrales de souris isologues en voie d'hypertrophie rénale compensatrice augmente l'HRC. Il faut souligner l'importance des différences radicales entre les espèces rentrées en expérience dans la série 3/ décrite dans la page 172 :

- donneur d'antigène : embryon de porc
- producteur d'immunsérum : lapin (ou chèvre, ou cheval)
- receveur des fractions immunes non albuminiques: souris C57 RCH. Ces différences entre les espèces constituent des paramètres qui garantissent un effet néphrotrope maximum.

L'HRC est le résultat de l'augmentation de la population cellulaire alpha à 1,75 (alpha) par des duplications (alpha, alpha) suivies de duplication (alpha, n) qui sont des duplications d'entretien du parenchyme hypertrophié.

Il y a lieu de distinguer :

- L'HRC à commande locale : non modifiable par l'injection de réserpine
- de l'HRC à commande nerveuse modifiable par l'injection de réserpine qui agit sur le métabolisme cérébral.

L'auto-anticorps vrai anti-R s'identifierait aux "anti-templates" de WEISS (1958), à l'inhibiteur de croissance d'OSGOOD (1959).

La voie d'information montante superficielle est nerveuse, détruite par section du pédicule rénal ou sa phénolisation. La voie d'action descendante profonde est seulement détruite par section du pédicule rénal; elle est insensible à la phénolisation.

II - CONCLUSIONS FINALES

Nous avons pu préciser les conditions d'expérimentation qui donnent une grande précision à l'étude du mécanisme et du déterminisme cytogénétique de l'HRC chez la souris adulte.

1/ A la technique des pesées imprécises et utilisables seulement à un stade tardif, nous substituons la comparaison des rapports ADN du rein droit/ADN du rein gauche d'une souche de souris génétiquement déterminée, souris croisées entre frère et soeur depuis 75 générations (souche C 57 RCH).

La constance de ce rapport qui est une donnée biométrique sûre a permis de tracer une courbe représentant la vitesse de formation d'ADN du rein hypertrophié; elle est reproductible, connue à $\pm 1 \%$. Elle a l'avantage non seulement d'être précise, mais encore sensible.

2/ Nous avons pu extraire du diencéphale d'animaux en HRC une substance hydrosoluble qui augmente l'HRC, et démontrer que ce phénomène est en relation avec le métabolisme du tissu nerveux.

3/ L'immuno-électrophorèse révèle une protéine intracellulaire "X" démobilité électrophorétique moyenne et de diffusion lente, décelable à soixante jours après ablation du rein. Nos dernières études montrent qu'elle est décelable dès les premiers jours après ablation du rein. Il importe de noter que l'immun-sérum utilisé pour cette analyse immuno-électrophorétique doit nécessairement être fabriqué à partir des protéines de reins de souris isologues à 90 jours d'HRC.

4/ L'ablation de la capsule périténae modifie l'HRC, au moins au cours des 3 premiers jours; on peut admettre qu'y sont inclus des récepteurs inhibiteurs de croissance.

5/ La phénolisation du pédicule rénal du rein hypertrophié a un effet comparable à sa décapsulation, ce qui laisse penser à l'atteinte de la voie superficielle des influx allant du rein au diencephale, par la phénolisation.

6/ Comme la phénolisation augmente l'HRC et si nous reconnaissons nécessaire pour la croissance, une activité sécrétoire des terminaisons nerveuses, il n'est pas illégitime de penser que la voie profonde des influx nerveux allant du diencephale au rein n'est pas atteinte par la phénolisation.

Nous avons replacé ces résultats dans les cadres tracés par la littérature actuelle que nous nous sommes efforcés de classer.

B I B L I O G R A P H I E

- ABBLOCK M. (1948) - La Croissance - Presses Univ. Fr. edit. Paris
- ACE G., HEIDIS A. et WARDEN H. (1961) - Biochim. et Biophys. Acta 50, 403
- ADDIS R. et LEW W. (1940) - J. Exp. Med. 71, 325.
- ADDIS R., MYRICK D.H. et OLIVER J. (1924) - Arch. Int. Med. 34, 243.
- ADIBI E., PASCHKE K.E., GANTAROW J. (1954) - Exp. Cell. Res. 18, 396.
- AKAMATSU N. (1925) - Virchow's Arch. path. 240, 308.
- AMBARD L. (1926) - C.R. Soc. Biol. 94, 1375.
- AMBARD L. et PAVIN E. (1909) - Arch. Intern. Physiol. 9, 437.
- ARATAKI M. (1926) - Am. J. Anat. 36, 399.
- ARATAKI M. (1926) - Am. J. Anat. 36, 437.
- ARDRY R. (1949) - Ann. Biol. Clin., 7, 407.
- ARDRY R. (1960) - Ann. Biol. Clin. n° 3-4, 216.
- ARDRY R. (1962) - Annales pharm. fr. XX, 42.
- BAILLET J. et CARLOTTI J. (1955) - Les bronchites chroniques, Maloine Ed. Paris
- BALUS L. (1961) - Brit. J. Dermat. vol. 73, n° 2, 69.
- BALZER H., HOLTZ P., PALM D. (1961) - Experientia, 17, 58.
- BARETH C. (1963) - C.R. Acad. Sc., 256, 875.
- BAR-MAOR et GILTIN G. (1961) - Transplantation - Bulletin 27 4, 460.
- BARONE P. (1956) - Biol. Lat. Milano 9/3, 399.
- BATEMAN A.J. (1962) - Nature, 193, 705.

- BAYLE H. (1926) - Thèse Médecine Paris
- BECKER N.H., OGAWA K. (1959) - J. Biophys. Biochim. Cyt. Vol. 6
n° 2, 295
- BECKMANN O. (1856) - Arch. f. path. anat. 11, 52.
- BEGG R.W., STICH H. (1958) - 7è Congrès intern. Cancer London,
Abstracts of papers , 130.
- BEIN H.J. (1956) - Pharm. Rev. 8, 435.
- BENOIT J. (1926) - C.R. Soc. Biol. 94, 1378.
- BERTI G. (1921) - Policlinico Seg. Chirug., 2ème année, n° 6 et
7 Juin, 289.
- BLANCARD (1690) - Lexicon Novum mod. Græc. Lat. Art. Nephroto-
mia, Transat Philo de la Sté Royale de Londres.
- BLOMQUIST K. (1957) - Acta Pathol. et Microb. Scand. Supp.
121, 65.
- BINET L., DEJOURS P., LACAISSÉ A. (1950) - C.R. Soc. Biol. Fr.
144, 84.
- BOEKE (1938) - Ann. d'Anat. Path., 16, 8.
- BOLLEMANN J.L. (1935) - Arch. Path. 19, 28
- BONSACK F. (1961) - Inf. Thermodyn. Vie et Pensée, Ed. Gauthier
Villars, Paris
- BRACHET J. (1940) - Arch. Biol. 51, 167.
- BRACHET J. (1942) - Arch. Biol. 53, 207.
- BRACHET J. (1943) - Bull. Acad. Belg. I. Sc. 29, 107.
- BRAUN-MENENDEZ E. (1952) - Acta Physiologia Latino Americana,
2, 5.
- BRAUN-MENENDEZ E. (1953) - Presse Méd., 61, n° 31, 656.
- BRAUN-MENENDEZ E. et CHIODI (1947) - Rev. Soc. Argent. Biol.
23, 21.
- BRIOT C., BAILLET J. (1962) - Communicat. personn. Hôp. Broussais
Paris.
- BRIOT C., NGUYEN-TRONG T., de BRUX J., REGNIER C. et BAILLET J.
(1961) - Path. Biol. Vol. 9, 17, 1721.

- BRODIE B.B., SPECTOR S., SHORE P.A. (1959) - Ann. N.Y. Acad. Sc. 80, 609.
- BRODY S. (1958) - Nature, 182, 1386.
- BUCHER N.L.R., GLINOS A.D. (1950) - Cancer Res., 10, 324.
- BULLOUGH W.S. (1948) - Proc. Roy. Soc. London S.B., 135, 212.
- BULLOUGH W.S. (1950), J. Endocrin. 6, 240.
- BULLOUGH W.S. et EISA E.A. (1950) - J. Exp. Biol. 27, 257.
- BULLOUGH W.S. (1952) - J. Endocr. 8, 265.
- BULLOUGH W.S., LAURENCE E.R. (1960) - Exper. Cell. Res. 21, 394
- CARLSSON A., LINDQVIST M., MAGNUSSON T., WALDECK B. (1958) 127
471.
- CARNOT P. (1913) - C.R. Soc. Biol. 74, 1086.
- CARNOT P. et MAY R.M. (1938) - C.R. Soc. Biol. 128, 641.
- CASPERSON T. (1941) - Naturwissens Chaften, 29, 33.
- CATTANEO S.M. (1960) - Radiat. Res. 12, 587.
- CATTANEO S.M., QUASTLER H., SHERMAN F.G. (1961) - Nature, vol
190, n° 47779, 923.
- CAUCHOIX J. (1939) - Thèse méd. Paris.
- CHAMPY (1922) - Arch. Morph. gén. et Exp., cité par COUJARD(1957)
- CHATAGNON G. et CHATAGNON P. (1960) - Anna. de Biol. Clin.
n° 3-4, 140
- CHEN G., ENSOR C.R., BOHNER B. (1954) - Proc. Soc. Exp. Biol.
Med. 86, 507.
- CHRISTIENSEN B.G., JACOBSEN E. (1949) - Acta Med. Scand. Supp.
234, 103.
- COLLONGE R. (1944) - C.R. Soc. Biol. 138, 494.
- COMMAIRE J.M. (1833) - Thèse Méd. Paris
- CORNU P. (1953) - Thèse Méd. Paris.

- COUJARD R. (in Thomas J.A. 1955) - Probl. de Struct. et d'ultra-struct. et de fonction cellul. - Ed. Masson, Paris.
- COUJARD R. (1957) - Régulation neuro-végétative de la croissance et de l'équilibre tissulaires - Edit. Vige Frères Paris
- COURCON J. et URIEL J. (1958) - Ann. Biol. Coin. 3, 181
- COURI D., RACKER E. (1959) - Arch. Bioch. N.Y. 83 (1), 195
- CROISILLE Y. (1958) - Arch. Anat. Micros. méd. exp. 47/3, 359.
- DARGENT (1941) - Soc. Méd. et Sc. méd. de Lyon, dans Concours Médic. 23 nov.
- DAVIDSON J.N. (1947) - Cold Spring Harbord Symposium on quantitative Biol. XII, 50
- DE ROBERTIS J.N. (1947) - J. biophys. biochem. cytol. 2, 503.
- DE ROBERTIS E. (1956) - J. biophys. biochem. cytol. 2, 503.
- DE ROBERTIS E. (1958) - Exp. Cell. Res. Suppl. 5, 347
- DEBENNEDETTI (1911) - Arch. Per. Sc. med. Torino, XXXV, 307, 324
- DEJOURS P. (1950) - Thèse Méd. Paris, dact.
- DESAUX A. (1953) - Affect. de la chevelure et du cuir chevelu Ed. Masson, Paris.
- DE RECONDO (Mme A.M.), FRAYSSINET Ch., MAY P. (1962) - C.R. Acad. Sc. 255, 2667.
- DISCHE Z. (1930) - Microchemie, 8, 4
- DISCHE Z. (1958) - Ann. N.Y. Acad. Sc. 75(1) 120
- DRIESCH (1891) Zeit. Wiss. Zool. 53, 160
- DUCAN ROLLASON H. (1949) - The Anat. Record. Vol 104, n° 3, 263
- DUCET C. et KAHANE E. (1946) - Bull. soc. Chim. Biol. 28, 794
- EGDAHL R.H. (1960) - Endocrinology 66, 200
- ECKARDT C. Th. (1888) - Arch. f. path. Anat. 114, 216
- ELLIS L.B. et WEISS S. (1933) - Am. J. Med. Sc. 186, 242

- FATT P. (1954) - *Physiol. Rev.* 34, 674
- FIORI P. (1901) - *Le policlinico Sezionee chirurgica* 8, C, 309
349, 428
- FOLLENIUS E. (1962) - *C.R. Acad. Sc.* 255, 3474
- FONTAINE Th. et VEIL G. (1947) - *Arch. Sc. Physiol.* 1, 49
- FONTY P. (1950) - *Ann. Biol. Clin.* n°3, 312
- FORTI C. (1954) - *Bull. Soc. Ital. Biol. Spes.* 30, 704
- FRAYSSINET Ch. (1962) - *Thèse Sciences Paris*
- FRIEDBERG F., TARVER H. et GREENBERG D. - *J. Biol. Chem.* 173 355
- FRIEDRICH-FREKSA H., ZAKI F.G. (1954) - *Z. Naturforsch.* 96, 394
- FULTON et Pi SUNER (1928) - *J. Am. Phys.* 83, 556
- GAITONDE M.K. et RICHTER D. (1956) - *Proc. Roy. Soc. London*
B 145, 83
- GALLEOTTI T. et VILLA-SANTA G. (1902) - *Arch. f. Path. anat.*
31, 121
- GALLIEN L. (1958) - *Problèmes et concepts de l'embryologie expériment.* Ed. Gallimard - Paris.
- GLEES P. et GRIFFITH H.B. (1952) - *Monatsch. für Psychiat. und Neurol.* 123, n° 4-5, 193
- GLINOS A.D., GLY G.C. (1952) - *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.* 80
421
- GLINOS A.D. (1959) - dans THOMAS J.A. (1959) *Problèmes d'ultrastructures et de fonctions nucléaires* - Ed. Masson, Paris
- GOLDBLATT H. (1949) - *The renal origin of hypertension (Monogr. in Amer. Lect. in Pathol.)* Springfield III, Ch. Thomas
- GOLGI G. (1882) - *Arch. P. le Sc. Med.* 6, n° 20
- GONZALEZ R. (1938) - *C.R. Soc. Biol.* 129, 1270
- GOOD C.A., KRAMER H., SOMOGYI M. (1933) - *J. Biol. Chem.* 100
485

- GORNALL A., BARDAWILL C.J. et DAVID M.M. - J. Biol. Chem. 177
751.
- GOUTIER R. (1960) - Int. J. Rad. Biol., Suppl. 1, 93
- GRABAR P. et WILLIAMS C.A., (1953), Bioch. Biophys. Acta., 10, 193.
- GRABAR P. et WILLIAMS C.A. (1955) - 17, 67.
- GRABAR P. et URIEL J. (1956) - Ann. Inst. Pasteur, 90, 147.
- GRASSET E., PONGRATZ E. et BRECHBUHLER T. (1956) - Ann. Inst.
Pasteur, 91, 162.
- GRAWITZ P. et ISRACLO (1882) - Arch. f. Path. Anat. Berlin, 88,
390.
- GROSS F. et STRICKER E. (1951) - Arch. Int. Pharm. et de Théra-
pie, 88, n° 2, 127.
- GUDDEN (Von) (1876) - Arch. f. path. Anat., 66, 55.
- GLASS B. (1958) - in the chemical Basis of Development - J.
Hopkins Press, Baltimore
- HARKNESS R.D. (1952) - J. Phys. G.B., 116, 373.
- HALPERN B.N. et COURNOT L. (1951) - C.R. de la Soc. de Biol.
145, 1075.
- HARTMANN L. et TOILIEZ M. (1957) - Rev. Fr. Et. Clin. et Biol.
2, 197.
- HAUG H. (1953) - Acta Anat., 19, 60, 153, 239.
- HELMUT P.G., KESKEL M.D. (1960), AMA J. of Diseases of Children
99, 115.
- HERLANT M. (1949) - Ann. Endoc., 10, 313.
- HERSHEY F.B. (1960) - J. Histochem. Cytochem., 8, 41.
- HOFF H. et RIEHL Jun. (1937) - Arch. für Dermatol., 176, 196.
- HOLGER HYDEN (1962) - Endeavour, Octobre, page 144.
- HUGHES W.L., BOND V.P., BRECHER G., CRONKITE E.P. PAINTER R.B.,
QUASTLER H., SHERMAN F.G. (1958) - Proc. Nat. Acad.
Sc., 44, 476.

- HUNGERFORD D.A., DONNELLI A.J., NOWELL P.C., BECK S. (1959) -
Am. J. Hum. Génét., 11, 215.
- JACOB M. (1953) - Thèse Sciences Strasbourg.
- JACOBS F., MONOD J. (1961) - J. Mol. Biol. 3, 318.
- JOSHUA L. EDWARDS, KLEIN R.E. (1961) - Phys. Rev., Vol. 38, n° 4,
p. 437.
- JOST A. (1956) - Ann. Endocrin. Paris, 17, 118.
- KALCKAR H. (1937) - Enzymologia, 2, 47.
- KALCKAR H. (1939) - Biochem. J., 33, 631.
- KARSNER H.T., HANZAL R.F. et MORRE R.A. (1934) - Arch. Path
17, 46.
- KIRSCH F., DE BRUX J. et ARDRY R. (1956) - Rapports des Journées
Médicales de France et de l'Union Française, Session
de Clermont-Ferrand, 17-21 mai 1956.
- KOHN R. (1958) - Exp. Cell. Res., 14, 228.
- KORENCHEWSKY V., DENNISON M. et KOHN-SPEYER A. (1933) - Biochem.
J., 27, 557.
- LATTIMER J.K. (1942) - The Journ. of Urol., 48, 778.
- LEBLOND C.P., WALKER B.E. (1956) - Phys. Rev., 36, 255.
- LEJEUNE J. (1960) - Annales de Génétique, vol. 2, n° 1, page G I
- LERAY Cl. (1963) - C.R. Acad. Sc. 256, 795.
- LEUSEN J. (1961) - In monoamies et Syst. nerveux central. Ed.
Masson, Paris, p. 119.
- LEVI-MONTALCINI R., ANGELETTI P.U. (1961) - The Quartely Rev.
Biol. vol. 136, n° 2, 99.
- LISCO et Coll. (1962) - Nature Londres, 192 - 4802, 571.
- LOEWI O. (1921) - Pflüg. ges. Phys. 189.
- LOISELEUR J., Mlle CATINOT L., DE VOMECOURT A. Mme - C.R. Acad.
Sc. 256, 1030.

- LORENZ H. (1886), ZEITSCHR. f. Klin. Med., 10, 545.
- LOWZLL D.L., GRENN S.A., KRATOWER C.A. et BAIN J.A. (1953)
Am. J. Phys., 472, 709.
- LUNDGAARD E. (1935) - Skand. Arch. Physiol., 72, 265.
- LENDER Th. (1950) - C.R. Soc. Biol., 144, 1407.
- LENDER Th. (1955) - Rev. Suisse Zool., 62, 268.
- LENDER Th. (1956) - Bull. Soc. Zool. Fr., 81, 192.
- MAGGIO R., ALELLLO F. et MONROY A. (1960) - Nature, 188, 1195.
- MAGGIO R. et MONROY A. (1959) - Nature, 184, 68.
- MAILLET M. (1957) - Innervation sympathique du rein : son rôle trophique, thèse sciences, Paris, dactyl.
- MAMO H. (1962) - La Presse Méd., 70, 2508.
- MAC KAY L.L., MAC KAY E.M. (1938) - J. exp. med. 67, 515.
- MAC KAY E.M. (1940) - Proc. Soc. Exp. Biol. arc. Med., 45, 216.
- MAC KAY L.L., ADDIS T. et MAC KAY E.M. (1937) - J. Exp. Méd.
67, 515.
- MAC QUEENS, WILLIAMS M. et THOMSON K.W. (1940) - Yale J. Biol.
Med., 12, 531.
- MANDEL P., JACOB M. et MANDEL L. (1950) - J. Physiol., 42, 662.
- MANDEL P., JACOB M. et MANDEL L. (1950) - Bull. Soc. Chim. Biol.
32, 80.
- MANDEL P., Mme MANDEL L., Mlle JACOB M. (1950) - Compte rendu
de la Sté Biol., 144, 1548.
- MANDELL L. (1955) - Thèse Sciences, Strasbourg, Dactyl.
- MANDEL L., WINTZERITH M., JACOB M., PEREY M. et MANDEL P. (1957)
C.R. Sté Biol., 151, n° 5; 993.
- MEJBAUM W. (1939), ZEITSCHR. Physiol. Chem., 258, 117.
- MOBERG (1936), cité par MANDEL L. (1955).
- MOLIMARD R. (1959) - Rev. fr. Et. Clin. Biol. 4, 652.
- MONROY A. (1961) - Bull. Soc. Zool. France, LXXXVI, n° 4; p. 425.

- MOREL F., GUINEBAULT (1961) - J. Phys., 53, 75.
- MOREL L. et VERLIAC H. (1913) - C.R. Soc. Biol. 74, 1202.
- MORREL F. (1960) - Epilepsia, 1, 538.
- MUDGE G.H. (1951) - Am. J. Physiol., 165, 113.
- MUDGE G.H. (1951) - Am. J. Physiol. 167, 206.
- NAHORA Hir., NAHORA Hat. (1957) - Gann. 48, 255.
- NEUZYLY (1958) - C.R. Sté Biol., 152, 599.
- NGUYEN TRONG Thu et ARDRY R. (1959) - Ann. Biol. Clin., n° 10-12
619.
- NGUYEN-TRONG Thu et BRIOT Colette (1961) - Path. Biol. Vol. 9
n° 17-18, 1717.
- OGAWA K., NOWINSKI W.W. (1958) - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 99
350.
- OGAWA K. et SINCLAIR J.G. (1958) - J. Texas rep. Biol. and Med.
16, 215.
- OSGOOD E.E. (1959) - In the Kinetics of Cellular Proliferation
Ed. Stochlman F. - Grune et Stratton, New York and
London, p. 282.
- OUCHTERLONY O. (1949) - Act. Path. Microb. Scand., 26, 507.
- OUDIN J. (1960) - C.R. Acad. Sc. Paris, 250, 770.
- PAASONEN M.K., DEWS P.B. (1958) - Brit. J. Pharmacol., 13, 34.
- PALAY S.L., PALADE G.E. (1955) - J. Biophys. Biochem., Cyto
1, 69.
- PERL L. (1872) - Arch. f. Path. Anat. Berlin, 56, 305, 315.
- PERUTZ, LUSTIG, KLEIN (1934) - Arch. F. Dermat., 170, 511.
- PLETSCHER A., SHORE P.A., BRODIE B.B. (1956) - J. Pharmacol.
116, 84.
- PRESSMAN D. (1957) - Ann. N.Y. Ac. Sc., 70, 72.
- PUTZU F. (1910) - Ann. des Mal. Org. Gen. Ur., 27, 31.

- QUASTLER H. (1960) - Ann. N.Y. Acad. Sc. Vol. 90, Art. , 2, 580.
- RIBBERT H. (1882) - Arch. F. Path. Anat. Berlin, 88, 11.
- ROGER C.H. et BINET L. (1939) - Traité de Phys. norm. et path
t. IV - Masson Ed. Paris
- ROGERS (1959) - Ann. N.Y. Acad. Sc. 83, 408
- ROGERS A.E., SHAKA J.A., PECHET G., MAC DONALD R.A. (1961) -
Phys. Rev. vol 39, n° 5, 561.
- ROKITANSKY K. (1957) - Lehrbuch der pathol. anat., 3, 141.
- ROSE N.R., SULMAN S., WITEBSKY E. (1962) - The J. of Immunol.
4, 229.
- ROSENSTEIN S. (1871) - Arch. f. path. anat. Berlin, 53, 141.
- RUDALI G., REVERDY J., CHIECO-BIANCHI L., YOURKOVSKI N. - (1960)
J. Nat. cancer Inst., vol 24, n° 4; 821.
- SHEIDEGGER J.J. et BUZZI C. (1957) - Rev. Fr. Et. Clin. Biol.
2, 898.
- SCHMITT F.O. et GEREN B.B. (1950) - J. Exp. Med. 91, 499.
- SCHNEIDER J.A. (1957) - dans Rauwolfia, Ed. Little Brown, Boston
Toronto.
- SCHNEIDER W.C. (1945) - J. Biol. chem. 161, 293.
- SEATREN H. (1956) - Exp. cell. res., 11, 229
- SELYE H., STONE H., NIELSON K. et LEBLOND C.P. (1945) - The
Canad. Med. Asso. J., 52, 571.
- SHERMAN F.G., QUASTLER H. (1960) - Exp. Cell. res. 19, 343.
- SINGER M. (1954) - J. exp. zool. 126, 419.
- SINGER M. (1958) - Scient. Am. Octobre 1958, reprinted from
Freemann Ed San Francisco.
- SLIKE (Van) D.D., RHOADS C.P., HILLER A. et ALVING A.S. (1934)
Am. J. of Physiol., 109, 336.

- SMITH A.H. et MOISE T.S. (1927) - J. Exp. Méd., 45, 263 et 46
27.
- SMITH W.W. (1962) - Radiat. Res., 16, 201.
- SMYTHE R.L., MOORE R.O. (1958) - Surgery, 44, 561.
- SNELL G.D. (1960) - Cancer Research, vol. 20, n°2, p. 145.
- SPEMANN H. et SCHOTTE O. (1932) - Naturwiss, 20, 463.
- STEINBERG D. (1960) - Annal. Biochem., vol. 1, n°1, 23.
- STERN HEBERT (1962) - Phys. Rev., 42, 271.
- STICH H.F., FLORIAN M.L. (1958), canad. J. Biochem. Physiol.,
36, 855.
- STIEFER, dans DESAUX A. (1953) - Affections de la chevelure et
du cuir chevelu. p.98 - Ed. Masson à Paris.
- STOLKOWSKI J. (1960) - Les enzymes, Collection "que Sais-je ? "
n° 434, Ed. Presse Univ. Fr. Paris.
- SULKIN N.M. (1949 - Anat. rec. 105, 95.
- TAGGART J.V. et FORSTER R.P. (1950) - Am. J. Physiol., 161, 167.
- TAYLOR J.H., WOOD P.S., HUGHES W.L. (1957) - Proc. Nat. Acad.
Sc., 43, 122.
- TERROINE E.P. et BELIN P. (1927) - Bull. Soc. Chim. Biol., 9, 12.
- TERROINE E.F. et WEILL J. (1913 - J. Physiol. Path. gén. 15, 549.
- TERROINE E.F., HATTEMER G. et ROEHRIG P. (1930) - Bull. Soc.
chim. biol. 12. 657.
- THOMAS J.A. (1955) - Probl. de struct. d'ultrastruct. et de
foncs cell. Ed Masson, Paris.
- THOMAS J.A. (1959), Probl. d'ultrastructures et de fonctions
nucléaires, Ed Masson, Paris.
- TILP A. (1912) - Proc. de régénération dans le rein humain
G. Pison Ed, Iéna
- TROPD J., STUDER A., MEIER R. (1957) - Arch. Inst. Pharmacodyn.
112, 319.

- TUFFIER M. Th. (1888) - Bull. Soc. anat. Paris, 63, 1020.
- TULPULÉ P.G. (1959) - Ind. J. Med. res. 47, 340.
- TEIN H., RAVANTI K. (1953) - Exp. Cell. res., 5, 500.
- URIEL J. (1958) - Clin. chim. Acta, 3, 234.
- URIEL et SCHNEIDEGGER J.J. (1955) - Bull. Soc. chim. biol. 37, 165.
- VALENTIN G. (1839) - de Functionibus nervorum cerebralium et nervisymphathici, Bern, p. 148.
- VENDRELY R. et C. (1948) - Experientia, 4, 434.
- VERNE J. (1937) - La vie cellul. hors de l'organ. : la cult. des tissus - Ed. Doin Paris.
- WEILL A. (1931) - Cité par AMBARD L. - Phys. normale et patholog. des reins - Masson Edit. Paris.
- WEISS P. (1958) - In dynamics of Proliferating Tissues - Ed. D. Price, Univ. Chicago Press, Chicago, pp. 43-57.
- WILLIAMS G.E.D. (1961) - British J. Exp. Path., 42 : 3,386.
- WINTERNITZ M.O. et WATERS L.L. (1940) - Yale J. Biol. Med. 12, 705.
- WITEBSKY E., STEINFELD J. (1928) - Z. Immunitätsforsch., 58, 271
- WRBA H. GOMEZ M., RANZ H. (1960) - Naturwiss, 47, 182.
- ZAHN R.K. (1961) - Abstracts of int. Biophys. Congress, Stockholm, 231.
- ZAMBECCARRI J. (1670) - Mangeta biblioteca anatomica; 12D2

- ZANNETTI G. (1911) - Arch. per le Sc. Med. Torino, XXXV, 149,
169.
- ZELLER E.A. (1961) - dans "Monoamines et système nerveux central
symposium Bel-Air, Genève, p. 51, Masson Ed. Paris.
- YATES F.E., URQUHART J. (1962) - Phys. Rev. Vol 42, n° 3; 359.
- YOUNG J.Z. (1956) - Endeavour, Janvier, page 5.
- WAJZER J. (1939) - Bull. Soc. Chim. Biol. 21, 1242.
- WOLFF R.L., MENDLOWITZ M., PICK J., GITLOW S.E., NAFTICHI N.
(1962) - Proc. Soc. Exp. Biol. 109, 308.
- WOLFF Et. (1952) - Rev. Scient. 90, 189.

- - - - -

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

" Les méthodes d'immuno-électrophorèse :
applications à l'étude des protéines cellulaires
chez les mammifères ".

Vu et approuvé :

Paris, le 22 mai 1963 19

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie

de Paris,

Jean ROCHE

